



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

TESE

**DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGEM ATIVA À BASE DE
AMIDOS MODIFICADOS E ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO
(*T. vulgaris*) ENCAPSULADO**

Maria Clara Guimarães

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGEM ATIVA À BASE
DE AMIDOS MODIFICADOS E ÓLEO ESSENCIAL DE
TOMILHO (*T. vulgaris*) ENCAPSULADO**

MARIA CLARA GUIMARÃES

Sob a Orientação da Professora
Dr^a. Nathália Ramos de Melo
e coorientações dos Professores
Dr^a Ana Sílvia Prata

e
Dr. Carlos Eduardo de Souza Teodoro

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutora em
Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no
Programa de Pós-Graduação em Ciência
e tecnologia de Alimentos, Área de
Concentração em Ciência de Alimentos.

Seropédica, RJ
2024

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

GG963d Guimarães, Maria Clara, 1991-
DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGEM ATIVA À BASE DE
AMIDOS MODIFICADOS E ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO
(T. vulgaris) ENCAPSULADO / Maria Guimarães. -
Seropédica, 2024.
126 f.: il.

Orientadora: Nathália Ramos de
Melo. Coorientadora: Ana Silvia Prata.
Coorientador: Carlos Eduardo de Souza
Teodoro.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
2024.

1. biopolímeros. 2. conservação de alimentos.
3. embalagem ativa. 4. mandioca. 5.
microencapsulação. I. Ramos de Melo, Nathália,
1975-, orient. II. Silvia Prata, Ana , 1977-
coorient. III. de Souza Teodoro, Carlos Eduardo,
1973-, coorient. IV Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. V. Título.

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



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS



TERMO Nº 440/2024 - PPGCTA (12.28.01.00.00.00.41)

Nº do Protocolo: 23083.028888/2024-53

Seropédica-RJ, 20 de junho de 2024.

MARIA CLARA GUIMARÃES

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.

TESE APROVADA EM 23/05/2024

NATHÁLIA RAMOS DE MELO, (Dra) UFF (orientador)

MARIANA TEIXEIRA DA COSTA MACHADO, (Dra) UFRRJ

LUÍS MARANGONI JÚNIOR, (Dr) UNICAMP

KLICIA ARAUJO SAMPAIO, (Dra) UNICAMP

MIGUEL ÂNGELO PARENTE RIBEIRO CERQUEIRA, (Dr) INL

Documento não acessível publicamente

(Assinado digitalmente em 20/06/2024 11:11)
MARIANA TEIXEIRA DA COSTA MACHADO
PROFESSOR MAGISTÉRIO SUPERIOR
DTA (12.28.01.00.00.00.46)
Matrícula: ###113#3

(Assinado digitalmente em 20/06/2024 13:50)
KLICIA ARAUJO SAMPAIO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.385-##

(Assinado digitalmente em 20/06/2024 11:12)
LUÍS MARANGONI JÚNIOR
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.798-##

(Assinado digitalmente em 25/06/2024 09:37)
NATHÁLIA RAMOS DE MELO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.796-##

(Assinado digitalmente em 20/06/2024 14:49)
MIGUEL ÂNGELO PARENTE RIBEIRO CERQUEIRA
ASSINANTE EXTERNO
Passaporte: ###363#2

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **440**, ano: **2024**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **20/06/2024** e o código de verificação: **8275061409**

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese a minha mãe, Neide Luzia Cadinelli Guimarães (*in memoriam*). Só nós sabemos o tamanho dessa conquista e o quanto batalhamos por ela, eu daqui e a senhora daí. Serei eternamente grata por todo esforço e dedicação. Sua proteção aí de cima me guiou para que eu conseguisse chegar até aqui. Sua lembrança e presença espiritual me inspiram e me fazem persistir. Essa vitória é nossa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e aos meus Orixás por terem me guiado ao longo deste doutorado, me dando saúde, força e proteção para que conseguisse superar todas as dificuldades e desafios vividos durante esta caminhada.

A minha amada mãe (*in memorian*), Neide Luzia, que sozinha conseguiu criar e guiar os seus três filhos no caminho do estudo. Que esteve sempre comigo, neste e no outro plano, até o fim dessa jornada. Obrigada por sempre vir em meus sonhos com uma palavra de incentivo e conforto nos dias em que ia dormir achando que não seria possível. Obrigada por suas orações e bênçãos. Sei que a senhora está comemorando mais uma conquista nossa aí de cima.

Ao meu filho Arthur, a razão de tudo, minha engrenagem. Obrigada pela compreensão e carinho durante o período no qual não pude dedicar-lhe a devida atenção. Amo-te. É tudo por e para você!

Ao meu companheiro de vida e de todas as horas, Carlos Eduardo. Obrigada pelo seu incentivo, pelo suporte e pela paciência além do normal naqueles dias tão atarefados que precederam a entrega deste trabalho.

Aos meus irmãos, Bruno José e Anna Beatriz, exemplos de amor, carinho, honestidade e perseverança. O suporte e apoio de vocês foram imprescindíveis. “Tudo que nós ‘tem’, ‘é’ nós.”

A minha orientadora, professora Dr^a Nathália Ramos de Melo pela orientação, por todos os ensinamentos, incentivo e paciência. Muito obrigada.

A minha coorientadora, professora Dr^a Ana Silvia Prata por ter me recebido de forma tão carinhosa e acolhedora em Campinas. Obrigada pelas trocas, ensinamentos e apoio. Você é uma inspiração de mulher, mãe e profissional.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado e pelos ensinamentos adquiridos.

A Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos e ao Laboratório de Inovação em Alimentos (LINA) pela oportunidade de desenvolver minha pesquisa, aprender novas técnicas e conhecer pessoas incríveis (Fer, Mari, Yasmim e Raul) que deixaram a caminhada mais leve e os dias longe de casa mais felizes. Obrigada Patrícia (Paty), por todo suporte no laboratório e por estar sempre disposta a ajudar.

A Universidade Federal Fluminense (UFF) de Volta Redonda, ao Laboratório de Embalagem e Tecnologia (LAETec) e ao Laboratório de Biotecnologia, pelo suporte para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos meus amigos e a todos que de alguma forma torceram e torcem pela minha vitória e que sempre acreditaram em mim. Ter amigos para rir, desabafar e ouvir conselhos fazem toda diferença nessa caminhada, deixando-a menos pesada. O meu mais sincero obrigada a cada um de vocês.

E por fim, agradeço a mim por ter sido gentil comigo mesma respeitando meus limites e mantendo a coragem e determinação. Por mesmo com medo, ter mudado de cidade, deixando filho e marido para encarar o novo e realizar meus sonhos. Ter conseguido equilibrar a maternidade, a tese e vida pessoal da melhor forma possível chegando até aqui com saúde mental. Consegui!!!!

RESUMO

GUIMARÃES, Maria Clara. **Desenvolvimento de embalagem ativa à base de amidos modificados e óleo essencial de tomilho (*T. Vulgaris*) encapsulado**. 2024. 126p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

A pesquisa aborda o desenvolvimento de embalagens ativas à base de amido modificado, visando soluções mais sustentáveis e eficazes para a indústria alimentícia por meio da encapsulação de óleos essencial de tomilho (OET) em materiais biodegradáveis. Sendo assim, o OET foi microencapsulado por coacervação complexa. As micropartículas formadas apresentaram tamanho de 10 μm com uma eficiência de encapsulação de 90%, carregando 0,30g óleo/g partícula seca. Posteriormente essas micropartículas foram incorporadas em filmes de amido neutro e modificados para então ser realizada a caracterização dos materiais formados. Foram analisadas a resistência mecânica, propriedades de barreira e térmicas, solubilidade, composição química, atividade antimicrobiana e antioxidante. Os filmes ativos formados com incorporação OET tanto livremente quanto em micropartículas, apresentaram melhora nas propriedades de barreira a água bem como atividade antimicrobiana e antioxidante. Entretanto, a modificação do amido aliada com incorporação das micropartículas conferiram melhora na resistência do material e maior estabilidade térmica. Além disso, a encapsulação ofereceu proteção adicional ao OET, melhorando atividade antimicrobiana contra *Escheria. coli*, *Staphylococcus aureus* e *Penicillium sp.* Dessa forma a presente pesquisa destacou a importância da inovação na área de embalagens alimentícias, visando prolongar a vida útil dos produtos e manter sua qualidade. A utilização de amidos modificados reforçados com micropartículas emerge como uma abordagem promissora para atender a esses objetivos, promovendo uma economia mais sustentável e resiliente.

Palavras chaves: biopolímeros, conservação de alimentos, embalagem ativa, mandioca, microencapsulação

ABSTRACT

The research addresses the development of modified starch-based active packaging, aiming for more sustainable and effective solutions for the food industry through the encapsulation of thyme essential oil (TEO) in biodegradable materials. Thus, TEO was microencapsulated by complex coacervation. The formed microparticles had a size of 10 μm with an encapsulation efficiency of 90%, carrying 0.30g oil/g dry particle. Subsequently, these microparticles were incorporated into neutral and modified starch films for the characterization of the formed materials. Mechanical resistance, barrier and thermal properties, solubility, chemical composition, antimicrobial, and antioxidant activity were analyzed. The active films formed with TEO incorporation, both freely and in microparticles, showed improvement in water barrier properties as well as antimicrobial and antioxidant activity. However, starch modification combined with microparticle incorporation improved material resistance and thermal stability. Additionally, encapsulation offered additional protection to TEO, enhancing antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Penicillium sp.* Thus, this research highlighted the importance of innovation in the field of food packaging, aiming to prolong the shelf life of products and maintain their quality. The use of modified starches reinforced with microparticles emerges as a promising approach to meet these objectives, promoting a more sustainable and resilient economy.

Keywords: active packaging, biopolymers, cassava, food preservation, microencapsulation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1 Produção de plástico no mundo nos últimos 5 anos. 8

Figura 2 Estrutura do amido. 10

CAPÍTULO II

Figura 1 Morfologia de micropartículas obtidas por microencapsulação: (a) microcápsula, (b) microesfera, (c) Microcápsula multicamada, (d) microesfera multicamada e multinuclear. 34

Figura 2 Representação esquemática do processo de Spray drying 38

Figura 3 Representação esquemática da técnica de coacervação complexa. 39

Figura 4 Representação esquemática da técnica de Eletrofiação. 41

Figura 5 Representação esquemática da técnica Nanoemulsão 42

Figura 6 Representação esquemática da técnica de Gelificação Iônica. 43

CAPÍTULO III

Fig. 1 Antimicrobial activity of the active films. 59

Fig. 2 Atomic force microscopy images of films (A) and Starch films (A). 65

Fig. 3 Infrared spectra of starch films incorporated with free and microencapsulated thyme oil. 67

Fig. S 1 Size of particles.....69

Fig. S 2 Microscopy of thyme coacervates with objective x40.....69

CAPÍTULO IV

Figura 1 Distribuição do tamanho das micropartículas. 86

Figura 2 Microscopia de fluorescência dos Coacervados.. 87

Figura 3 Propriedades mecânicas dos filmes.. 88

Figura 4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos filmes 91

Figura 5 FTIR dos films de amido com OET livre e microencapsulado..... 94

Figura 6 Curva termogravimétrica dos filmes com OET livre e microencapsulado 96

Figura 7 Curvas DSC dos filmes com OET livre e microencapsulado 97

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 Composição das principais fontes de amido.....	10
Tabela 2 Exemplos de aplicações de amido modificado em embalagens	16
Tabela 3 Tipos de tratamentos térmicos	18

CAPÍTULO II

Tabela 1 Conteúdo percentual dos componentes do óleo de tomilho	32
Tabela 2 Técnicas de encapsulamento para o Óleo essencial de tomilho (OET).....	36

CAPÍTULO III

Table 1 Formulation of cassava starch films containing thyme essential oil directly and microencapsulated.	55
Table 2 Effect of the incorporation of thyme oil, directly and microencapsulated, on the mechanical properties, the moisture content, solubility, WVTR and thickness of cassava starch-based films.	62
Table 3 Effect of the incorporation of thyme oil, directly and microencapsulated, on the color and opacity properties of cassava starch-based films.....	66

CAPÍTULO IV

Tabela 1 Formulação dos filmes.....	80
Tabela 2 Identificação dos diferentes tipos de filmes produzidos.....	81
Tabela 3 Efeito da incorporação de óleo de tomilho, diretamente e microencapsulado, sobre o conteúdo de umidade, solubilidade e TPVA e espessura dos filmes à base de amido.	92
Tabela 4 Efeito da incorporação de óleo de tomilho, diretamente e microencapsulado, sobre o conteúdo de cor e opacidade dos filmes à base de amido.....	98
Tabela 5 Halos de inibição (mm) dos filmes de amido modificados incorporados com OET direto e microencapsulado.	99
Tabela 6 Efeito da incorporação de óleo de tomilho, diretamente e microencapsulado, sobre o conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante (FRAP e ABTS ⁺)	100

LISTA DE ABREVIACÕES

ABRAS - Associação Brasileira de Supermercados

ABS - Absorbância

ABTS⁺ - 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)

AFM – Atomic force microscopy

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATR – Attenuated total reflectance

CMI – Concentração mínima inibitória

COOH⁻ - Ácido carboxílico

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil.

FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power

FTIR - Fourier Transform Infrared Spectroscopy

GA – Goma-arábica

GE – Gelatina

GRAS - Generally recognized as safe

LAE – N-lauryl-L-arginine ethyl ester monochlorohydrate

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MPa – Mega Pascal

OE – óleo essencial

OET – Óleo Essencial de Tomilho

OH - Hidroxila

SD – Standard deviation

TPVA- Teste de Permeabilidade ao Vapor d'água

WVTR – Water vapor transmission rate

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	ix
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIACÕES	xi
INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVOS	4
1.1 Objetivo geral	4
1.2 Objetivos específicos	4
GRAPHICAL ABSTRACT	5
RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. PROPRIEDADES DOS AMIDOS.....	10
3. TÉCNICAS DE MODIFICAÇÃO:.....	12
3.1 Modificação Química	12
3.2 Modificação Física	18
3.3 Modificação Enzimática	20
4. PERSPECTIVAS E CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS.....	23
CAPÍTULO II: TÉCNICAS DE ENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO PARA APLICAÇÕES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS.....	28
RESUMO.....	28
ABSTRACT.....	29
1. INTRODUÇÃO	30
2. TOMILHO, VISÃO GERAL	31

3. TÉCNICAS DE ENCAPSULAMENTO	34
3.1 Spray Drying	38
3.2 Coacervação complexa	39
3.3 Eletrofiação.....	40
3.4 Nanoemulsão	42
3.5 Gelificação Iônica.....	43
4. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	44
REFERÊNCIAS.....	46
 CAPÍTULO III: EFFECT OF MICROENCAPSULATED THYME (<i>Thymus vulgaris</i>) ESSENTIAL OIL ON THE ANTIMICROBIAL AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF STARCH FOOD PACKAGING	
GRAPHICAL ABSTRACT	51
ABSTRACT.....	52
1. INTRODUCTION	53
2. MATERIALS AND METHODS.....	54
2.1 Preparation of microparticles by complex coacervation	54
2.2 Microparticle morphology	55
2.3 Film formation.....	55
2.4 Film activation.....	55
2.5 Characterization of the active film	56
2.5.1 Antimicrobial activity.....	56
2.5.2 Mechanical properties and thickness	56
2.5.3 Moisture content, solubility and water vapor transmission rate (WVTR)	56
2.5.4 Visual Analysis and Microscopy of Atomic Force	57
2.5.5 Color, Luminosity and Opacity	57
2.5.6 Fourier-transform infrared (FTIR/ATR) spectrophotometry.	57
2.6 Statistical analysis	57

3. RESULTS AND DISCUSSIONS.....	57
3.1 Particle characterization	57
3.2 Characterization of the active film	58
3.2.1 Antimicrobial activity.....	58
3.2.2 Mechanical Properties and Thickness	61
3.2.3 Moisture content, solubility and WVTR	63
3.2.3 Visual Analysis and Microscopy of Atomic Force	64
3.2.4 Color, Luminosity and Opacity	66
3.2.5 Fourier Transform Infrared spectrophotometry (FT-IR).....	66
4. CONCLUSION	67
SUPPLEMENTARY FILES.....	69
REFERENCES	70
 CAPÍTULO IV: ESTUDO COMPARATIVO DAS PROPRIEDADES DE FILMES DE AMIDOS MODIFICADOS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO (<i>T.vulgaris</i>) LIVRE E ENCAPSULADO	 75
RESUMO	75
ABSTRACT.....	76
1. INTRODUÇÃO	77
2. MATERIAIS E MÉTODOS	78
2.1. Materiais utilizados	78
2.2. Preparação das micropartículas por coacervação complexa.....	78
2.3. Caracterização dos coacervados	79
2.3.1. Eficiência de encapsulação e load da partícula	79
2.3.2. Morfologia dos coacervados.....	79
2.3.3. Microscopia de fluorescência	80
2.4. Formação dos filmes.....	80
2.5. Caracterização dos filmes ativos	81
2.5.1. Propriedades mecânicas e espessura	81

2.5.2. Contéudo de umidade, solubilidade e Taxa de Permeabilidade ao Vapor d'água (TPVA)	81
2.5.3. Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy	82
2.5.4. Propriedades térmicas.....	82
2.5.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	83
2.5.6. Cor, Luminosidade, Opacidade	83
2.5.7. Atividade antimicrobiana	83
2.5.8. Compostos fenólicos e Capacidade Antioxidante	84
2.6. Análise estatísticas.....	85
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	85
3.1. Caracterização das micropartículas	85
3.2. Caraterização dos filmes ativos	87
3.2.1. Propriedades Mecânicas	87
3.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	89
3.2.3. Conteúdo de umidade, solubilidade TPVA e espessura	92
3.2.4. FTIR	93
3.2.5. Propriedades térmicas.....	95
3.2.6. Cor e Opacidade	97
3.2.7. Atividade Antimicrobiana	98
3.2.8. Compostos fenólicos e Capacidade Antioxidante	100
4. CONCLUSÃO.....	101
REFERÊNCIAS.....	102
CONCLUSÃO GERAL.....	107
REFERÊNCIAS.....	108
ANEXO A	110

INTRODUÇÃO GERAL

A crescente consciência ambiental pelos consumidores, incentiva a demanda por sustentabilidade e a redução do impacto ambiental das embalagens (POTRC et al., 2020). Na indústria de embalagens, metade dos plásticos derivados de combustíveis fósseis são destinados às embalagens de alimentos (NCUBE et al., 2020; YONG; LIU, 2020). Esforços vem sendo direcionados para pesquisas de desenvolvimento de filmes e revestimentos a base de polímeros ecologicamente amigáveis.

Nesse contexto, biopolímeros como o amido e óleos essenciais têm despertado interesse como matérias-primas promissoras para embalagens ativas, que desempenham um papel fundamental não apenas na proteção e conservação de alimentos, mas também na redução do desperdício e na minimização do impacto ambiental (LIU et al., 2022).

As embalagens ativas são um dos conceitos mais promissores que visam estender a validade comercial dos alimentos pois podem contribuir para redução da oxidação lipídica, diminuição das contaminações por microrganismos patogênicos e/ou deteriorante, e consequentemente podem reduzir incidência das doenças transmitidas por alimentos (DTA's) e o desperdício do mesmo (BRAGA; SILVA, 2017)

Os polímeros biodegradáveis, a exemplo dos amidos, vem sendo destaque para produção dessas embalagens biodegradáveis para alimentos visto que são renováveis, abundantes, GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro) e de baixo custo (ZHANG; LI; KANG, 2019). Além dos requisitos mencionados, este possui características de ser comestível compatível com outros biopolímeros, insípido, inodoro e hidrofílico (CAZÓN et al., 2017). Entretanto, podem apresentar certas fragilidades em relação às propriedades mecânicas e de barreira à umidade (ZHANG; LI; KANG, 2019). Isto posto, a modificação dos amidos pode aperfeiçoar características com o intuito de alterar tanto as propriedades mecânicas quanto as de hidrofiliabilidade dos materiais (CAZÓN et al., 2017; ZHANG; LI; KANG, 2019). Dessa forma, os amidos, sejam naturais ou modificados, podem servir de base para indústria de embalagens ativas de alimentos.

Entre os aditivos naturais utilizados nessas embalagens, os constituintes dos óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas, apresentam um amplo espectro antimicrobiano (bactérias, fungos e leveduras) e antioxidante (ESCOBAR et al., 2020; GONÇALVES et al., 2017a). O timol (2-isopropil-5-metil-fenol) é um dos principais fenóis terpenóides presentes nos óleos essenciais de orégano e tomilho. Além disso, foram classificados como compostos GRAS e como aditivos pela FDA (*Food and Drugs Administration*) que

os tornam adequados e eficazes como antimicrobiano e antioxidante em alimentos (LIN; ZHU; CUI, 2018).

Apesar das vantagens apresentadas pelo amido e pelos óleos essenciais em termos de renovabilidade, biodegradabilidade e propriedades funcionais, sua aplicação direta em embalagens ainda enfrenta desafios significativos. A instabilidade e volatilidade desses materiais, bem como sua sensibilidade a fatores ambientais, limitam sua eficácia e aplicabilidade em larga escala (VIANNA et al., 2021). Portanto, torna-se crucial desenvolver sistemas de encapsulamento que protejam e estabilizem esses componentes, garantindo sua eficácia ao longo do ciclo de vida das embalagens.

O encapsulamento envolve a retenção de um ingrediente ativo dentro de outro (material da parede) e criando uma barreira física entre o núcleo e materiais de parede, protegendo assim ingredientes sensíveis ao ambiente externo (BASTOS et al., 2020). Os compostos ativos encapsulados podem ser adicionados às matrizes poliméricas das embalagens de alimentos para conferir propriedades ativas (PISOSCHI et al., 2018).

Ainda existem poucas pesquisas na área de embalagens ativas com compostos encapsulados e amidos modificados (BECERRIL; NERÍN; SILVA, 2020; MATHEUS et al., 2023a). O desenvolvimento e implementação eficazes são fundamentais para promover a transição para uma economia mais circular e sustentável.

Diante desse contexto, o presente estudo visa desenvolver embalagens ativas à base de amido modificado e óleo essencial de tomilho (*T. vulgaris*) encapsulado, com foco na maximização de sua eficácia funcional e minimização de seus limitantes.

Para isto, foi utilizada a técnica de encapsulamento de coacervação complexa para garantir a estabilidade óleo essencial encapsulado, bem como a avaliação das micropartículas formadas. Posteriormente, foi realizada sua incorporação nos filmes de amido modificado e então avaliado o desempenho das embalagens. Além disso, fez-se a comparação da eficácia antimicrobiana e antioxidante dos filmes com micropartículas com filmes incorporados com o óleo livre.

Para melhor compreensão dos resultados do estudo, esta tese foi dividida, além desta introdução geral, em mais 4 capítulos e uma conclusão geral. Onde primeiro capítulo apresenta uma revisão que dá base para as aplicações metodológicas deste trabalho, discorrendo, em termos gerais, sobre a utilização de amidos modificados para produção de embalagens de alimentos. O segundo capítulo realiza uma revisão analisando as técnicas de encapsulamento aplicadas no óleo essencial de tomilho. O terceiro capítulo apresenta o artigo “*Effect of microencapsulated Thyme (thymus*

vulgaris) essential oil on the antimicrobial and physicochemical properties of starch food packaging” publicado no *International Journal of Food Science & Technology*, que discute os resultados do efeito da incorporação de diferentes concentrações do óleo essencial de tomilho livre e encapsulado nas propriedades antimicrobianas e físico-químicas dos filmes a base de amido de mandioca. O quarto capítulo apresenta um estudo comparativo das propriedades de filmes de amido modificado contendo óleo essencial de tomilho livre e encapsulado. Por fim, foram apresentadas as considerações finais gerais do estudo, ressaltando os principais resultados encontrados durante o desenvolvimento da pesquisa, bem como direcionamentos para o desenvolvimento de pesquisas futuras na área.

OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar filmes a base de amidos modificados ativos com óleo essencial de tomilho livre e encapsulado pela técnica de coacervação complexa.

1.2 Objetivos específicos

- Encapsular o óleo essencial de tomilho utilizando a técnica de coacervação complexa;
- Caracterizar as partículas formadas em relação a eficiência de encapsulação, tamanho das partículas, load e morfologia;
- Desenvolver filmes de amido de mandioca neutro com incorporação de diferentes concentrações das micropartículas
- Incorporar óleo essencial livre proporcional a concentração de óleo contida nas micropartículas, nos filmes de amido neutro
- Desenvolver filmes de amidos modificados utilizando amido de mandioca eterificado e oxidado com 5% de micropartículas e comparar com incorporação proporcional de óleo essencial livre;
- Caracterizar os filmes de amido modificado ativos quanto suas propriedades mecânicas, químicas, ópticas e de barreira;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes ativos neutro e modificados contra microrganismos gram-positivo, gram-negativos e fungo;
- Avaliar os compostos fenólicos e a possível capacidade antioxidante dos filmes ativos neutro e modificados

CAPÍTULO I: AMIDO MODIFICADO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS: UMA REVISÃO E PERSPECTIVAS

GUIMARÃES, M. C. ^{a*}; TEODORO, C. E. S. ^b; SILVIA; A. S. ^c; MELO, N. R. ^{a, b}

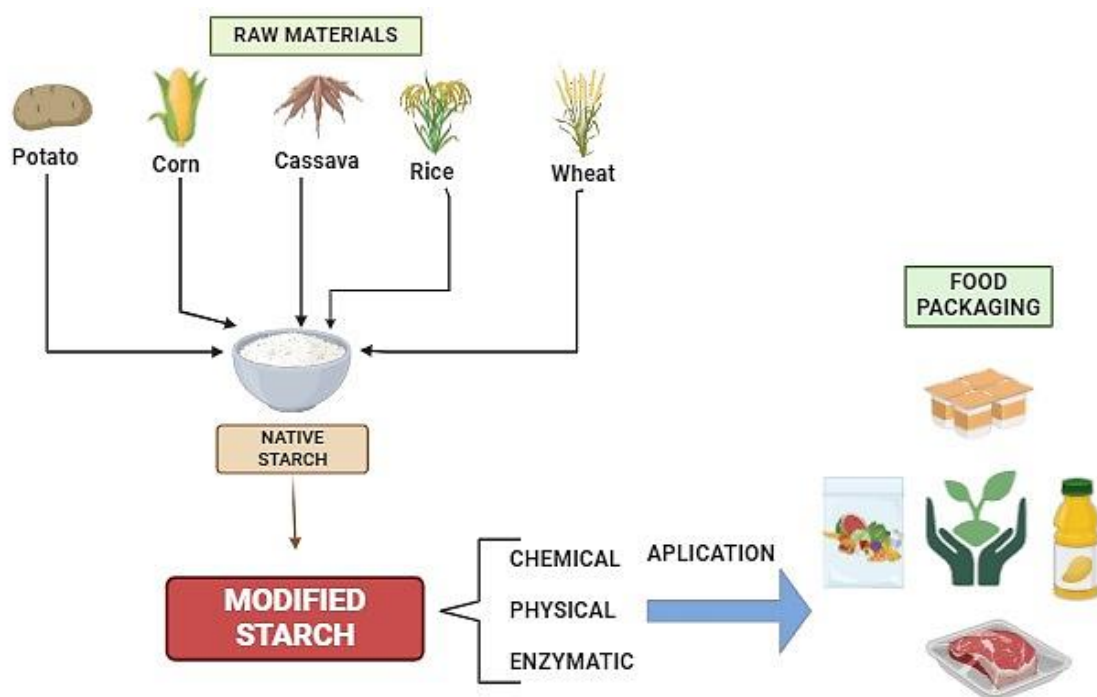
^a Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, Brazil

^b Departamento de Engenharia de Agronegócios, Universidade Federal Fluminense (UFF), Volta Redonda – RJ, Brazil

^c Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), Campinas - São Paulo, Brazil

Submetido para publicação na versão em inglês.

GRAPHICAL ABSTRACT



RESUMO

Os materiais ideais para embalagens de alimentos devem ser recicláveis, biodegradáveis e compostáveis. O amido, destaca-se como um dos biopolímeros apropriados para a produção de filmes biodegradáveis, dada a sua abundância natural e baixo custo. Porém, o aprimoramento das propriedades tecnológicas é desejável. Sua modificação, mediante a alteração de grupos funcionais na sua estrutura, resulta em filmes propícios à embalagens. Esta revisão oferece uma visão abrangente sobre esse biopolímero, com uma abordagem para o desenvolvimento de materiais sustentáveis para embalagens de alimentos. O estudo resume os principais métodos utilizados para modificação, o que se tem de pesquisa envolvendo o desenvolvimento de embalagens utilizando como base amidos modificados. São delineadas perspectivas para avançar em direção a embalagens de alimentos mais sustentáveis, alinhando-se com os princípios de uma economia circular.

Palavras-chave: Biopolímeros; Segurança Alimentar; Macromoléculas

ABSTRACT

The ideal materials for food packaging should be recyclable, biodegradable, and compostable. Starch stands out as one of the suitable biopolymers for the production of biodegradable films, given its natural abundance and low cost. However, enhancement in technological properties is desirable. Its modification, through the alteration of functional groups in its structure, results in films suitable for packaging. This review provides a comprehensive overview of this biopolymer, with an approach to the development of sustainable materials for food packaging. The study summarizes the main methods used for modification, as well as research involving the development of packaging using modified starches as a base. Perspectives are outlined to advance towards more sustainable food packaging, aligning with the principles of a circular economy.

Keywords: Biopolymers; Food Safety; Macromolecule

1. INTRODUÇÃO

A geração anual de resíduos plásticos mundial ultrapassa os 300 milhões de toneladas, onde destes, somente 10% é reciclado (NATIONAL GEOGRAPHIC BRASIL, 2023). O plástico de fonte não renovável pode levar até 450 anos para se decompor no ambiente (WARD; REDDY, 2020).

Em resposta a esse cenário preocupante há um consenso da necessidade de soluções, com foco no desenvolvimento de tecnologias materiais biodegradáveis (ANCY et al., 2024). De 2021 a 2022 a produção de bioplástico deu um salto de 145,75%, mas ainda representa apenas 0,5% do total de plástico produzido no mundo. (Figura 1) (PLASTICS EUROPE, 2023).

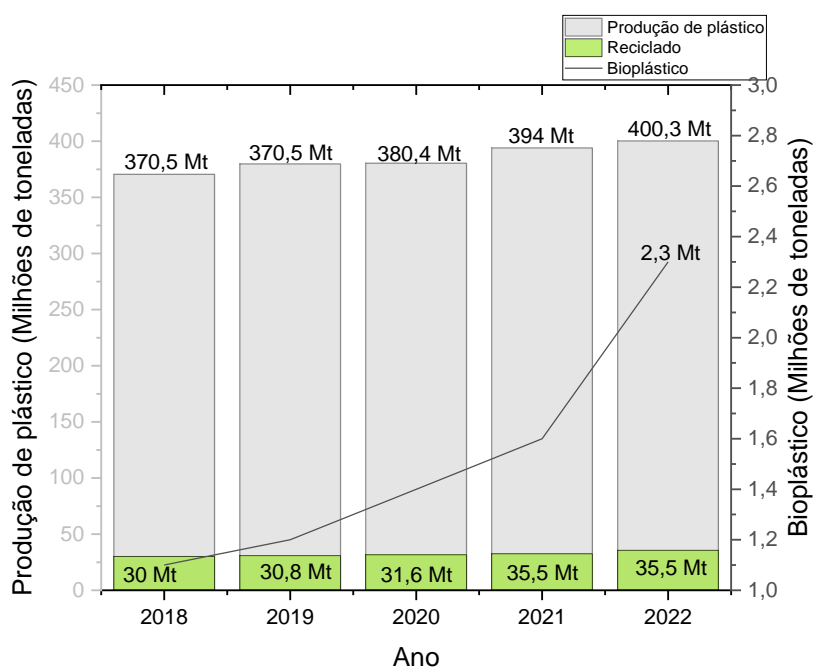


Figura 1 Produção de plástico no mundo nos últimos 5 anos. Fonte: Plastic Europe (2023).

A substituição desses polímeros à base de petróleo por alternativas sustentáveis já é uma realidade e vem cada vez mais despontando pesquisas e espaço no mercado de embalagens (CHENG et al., 2021; MATHEUS et al., 2023a; ZUBAIR et al., 2022).

A European Bioplastics classificou os bioplásticos como um mercado líder no crescimento da nova bioeconomia (ISHIMWE, 2023). Dentro desse cenário, apresentando menor impacto ambiental e menor custo comparado às embalagens de base microbiológicas (PLA, PHA), filmes à base de polissacarídeos, emergem como a próxima geração de materiais poliméricos, tendo sido considerados uma alternativa viável, por reduzir as emissões de gases de efeito estufa (WANG et al., 2022).

O uso de biopolímeros de base agrícolas, é eficiente na produção de plásticos ecológicos, exigindo menos terra e gerando maiores rendimentos. Atualmente, menos de 0,02% da área agrícola global é usada para produzir bioplásticos de base agrícola (arroz, mandioca, milho, batata), em comparação com os 91% dedicados à produção de alimentos e pastagens (ISHIMWE, 2023). Apesar do crescimento previsto no mercado de bioplásticos, segundo relatório da European Bioplastic (2023), a projeção de necessidade de terra agrícola para sua produção permanece abaixo de 0,06% até 2027.

O amido é oriundo de fontes vegetais amplamente cultivadas (batata, mandioca, arroz, trigo, milho) e apresentam-se como alternativa viável para a produção de filmes biodegradáveis, contribuindo para a redução do impacto ambiental associado às embalagens plásticas convencionais (LAUER; SMITH, 2020; LIU et al., 2022).

Nesse contexto, a modificação desses amidos emerge como uma estratégia promissora (MATHEUS et al., 2023a). Ao modificar suas propriedades, pesquisadores têm buscado aprimorar características como resistência mecânica, barreira contra umidade e flexibilidade, tornando esses filmes cada vez mais adequados e competitivos para diversas aplicações na indústria alimentícia (CHENG et al., 2022).

Embora as características dos filmes à base de amido sejam amplamente documentadas, as revisões sobre o assunto, até o momento, têm se concentrado principalmente em biopolímeros ou polissacarídeos de maneira geral, sem explorar especificamente as modificações nas propriedades dos amidos e os efeitos das modificações na estrutura e nas propriedades desses materiais para embalagens.

Sendo assim, nesta revisão, serão estudados os métodos de modificação empregados para otimizar as propriedades dos filmes à base de amido, bem como os avanços recentes que têm impulsionado o campo. Além disso, serão abordados desafios atuais e o papel importante desses filmes como objetivo de contribuir para uma economia sustentável dos plásticos.

2. PROPRIEDADES DOS AMIDOS

O amido é a matéria-prima mais promissora para a produção de polímeros biodegradáveis (LUCHESE; RODRIGUES; TESSARO, 2021). Sua composição e forma variam de acordo com a fonte botânica (Tabela 1), bem como as variedades genéticas de cada espécie; no entanto, os amidos são compostos por dois polímeros: a amilose e amilopectina (Fig. 2) (JANIK et al., 2024; LIANG; GAO, 2023). A amilose é composta por longas cadeias lineares ligadas por α -1,4 (SANTHOSH et al., 2024). Já a amilopectina, que é o principal polímero dos amidos, possui cadeias de glicose unidas por pontos de ramificação α -1,6. (Fig. 2) (ZHU, 2015).

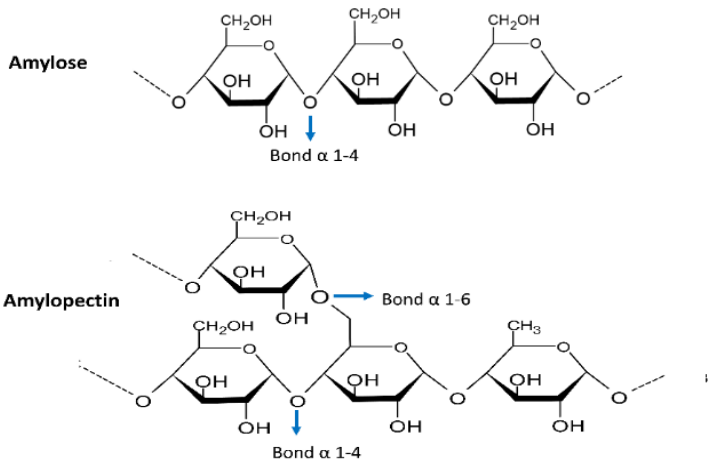


Figura 2 Estrutura do amido. Fonte: Própria autora

Tabela 1 Composição das principais fontes de amido

Principais fontes de amido	% de amilose	% de amilopectina	Referências
Mandioca	20	80	Hermiati; Sondari; Sunarti, (2023)
Batata	20-30	70-80	Bertoft; Blennow (2016)
Arroz	15-25	75-85	Bao (2018)
Milho	25	75	Lacerda et al. (2024)
Trigo	30	70	Lacerda et al (2024)
Banana	16-24	76-84	Chang et al. (2022)

O amido nativo possui uma forte hidrofilicidade devido à presença de grandes quantidades de grupos hidroxila hidrofílicos. Isso torna o amido suscetível à erosão pela umidade (VIANNA et al., 2021). A hidrofilicidade do amido geralmente deteriora suas propriedades mecânicas e estabilidade dimensional. Além disso, devido ao efeito desses

grupos hidroxila, as moléculas de amido têm fortes ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares, o que confere sua rigidez, baixa plasticidade e resistência à ruptura (MAJEED et al., 2023).

Devido à ação dessas ligações de hidrogênio, o amido é pouco solúvel em água à temperatura ambiente e é facilmente auto agregado em meios orgânicos, formando agregados na escala micrométrica durante o processamento (SANTHOSH et al., 2024).

Essas características podem resultar em baixa dispersibilidade em solventes orgânicos e pouca compatibilidade com polímeros hidrofóbicos (WANG et al., 2020).

Os filmes à base de amido destacam-se por uma variedade de propriedades intrínsecas que os tornam atrativos para aplicações em embalagens sustentáveis de alimentos como: biodegradabilidade, boa capacidade de formação de filmes, transparência, baixo custo e atoxicidade (FAN; PICCHIONI, 2020; MATHEUS et al., 2023b). Entretanto, quando transformado em filme, o amido exibe uma baixa resistência mecânica e alta solubilidade (FAN; PICCHIONI, 2020; JANIĆ et al., 2024). A capacidade de suportar tensões e deformações, comparável a filmes plásticos convencionais, torna a utilização desses materiais limitados para diversas aplicações (WANG et al., 2020).

O controle da transferência de umidade e de gases é crucial em embalagens para alimentos. Os filmes à base de amido demonstram propriedades de barreira que podem ser ajustadas para atender a requisitos específicos, garantindo a manutenção da qualidade e prolongando a vida útil dos produtos embalados (TRINH; DANG, 2019). Esses ajustes podem ser realizados através da modificação desses amidos (OJOGBO; OGUNSONA; MEKONNEN, 2020).

O avanço no entendimento dos efeitos das modificações na estrutura dos grânulos de amido é considerado crucial para uma compreensão aprofundada das propriedades funcionais dos filmes (JANIĆ et al., 2024).

Essas propriedades conferem aos filmes à base de amido características essenciais para enfrentar desafios ambientais e atender às demandas por embalagens mais sustentáveis na indústria alimentícia. Ao compreender e otimizar essas propriedades, os pesquisadores podem continuar avançando no desenvolvimento desses filmes para aplicações práticas e inovadoras.

3. TÉCNICAS DE MODIFICAÇÃO:

As modificações aplicadas ao amido nativo geram produtos amiláceos com propriedades específicas para sua utilização em diferentes processos, diversificando as propriedades funcionais, aumentando sua valorização e amplitude de uso (ZHU, 2015).

O amido nativo é frequentemente modificado por meio de métodos químicos, físicos e enzimáticos. A pesquisa sobre a modificação do amido tem sido um campo extenso de estudo evoluindo em termos de técnicas e resultados (MHASKE et al., 2022).

A modificação do amido visa superar as limitações inerentes ao amido nativo, abordando questões como baixa solubilidade, instabilidade durante ciclos de congelamento e descongelamento, resistência inadequada a forças de cisalhamento e térmicas, hidrólise enzimática deficiente, elevada sinérese, propensão à retrogradação e alta digestibilidade (WANG et al., 2020).

A otimização das propriedades dos filmes à base de amido envolve diversos métodos de modificação, visando atender às exigências específicas de diferentes aplicações na indústria de embalagens de alimentos. Alguns dos principais métodos incluem: modificação química, física e enzimática (ZHU, 2015):

3.1 Modificação Química

A modificação química do amido é realizada para aprimorar características como a resistência mecânica e a estabilidade térmica.

Estas técnicas são empregadas para alterar a estrutura molecular do amido, conferindo-lhe propriedades desejadas para a produção de filmes mais resistentes e versáteis (WANG et al., 2022). É possível realizar essas modificações químicas no amido devido à existência de três grupos hidroxila ativos nas moléculas de glicose (C2, C3 e C6) (COLIVET; CARVALHO, 2017). Além disso, essas modificações não destroem a integridade de sua cadeia (DAI; ZHANG; CHENG, 2019).

Através das modificações químicas, obtém-se amidos com ampla variedade de aplicação, pois as modificações adaptam os amidos para resistirem ao processamento e ao mesmo tempo aumentam a eficiência nos processos produtivos (DAI; ZHANG; CHENG, 2019).

Essas modificações podem ocorrer principalmente por três métodos: degradação (trata-se da oxidação de grupos hidroxila), substituição (através da esterificação ou eterificação) e reticulação (crosslinking).

a. Oxidação

A oxidação do amido, refere-se ao processo em que o amido é submetido a reações químicas de oxidação. Isso envolve a introdução de grupos funcionais contendo oxigênio na estrutura do amido, ou seja, os anéis de glicose são rompidos, gerando radicais carboxílicos (COOH) e carbonílicos (C=O). (WANG et al., 2022).

Os agentes oxidantes normalmente utilizados são: peróxido de hidrogênio, oxigênio, ozônio, bromo, ácido crômico, nitrogênio, hipoclorito de sódio (LAUER; SMITH, 2020; WANG et al., 2020).

O amido oxidado apresenta uma redução na viscosidade, na retrogradação, maior solubilidade em água, maior estabilidade e melhor capacidade de formação de gel para produção de filmes (COLIVET; CARVALHO, 2017; ZHU, 2015).

Sendo assim, o amido oxidado pode ser empregado em formulações para embalagens, revestimentos e outros produtos que se beneficiam das propriedades específicas conferidas por esse processo de modificação química (WANG et al., 2022).

Ao realizar a oxidação do amido de mandioca com peróxido de hidrogênio, Sondari; Iltizam, (2018) mostraram que a modificação química afetou as propriedades químicas de revestimentos/filmes comestíveis quanto comparado com filme de amido nativo. A modificação aumentou o ângulo de contato e a solubilidade dos filmes/revestimentos comestíveis, comprovando que os filmes de mandioca modificados são mais hidrofóbicos que os filmes de mandioca nativa.

b. Esterificação

A esterificação, refere-se ao processo químico em que grupos éster são introduzidos na estrutura do amido. Esse processo geralmente envolve a reação do amido com um agente de esterificação, como ácidos ou anidridos de ácidos carboxílicos (LAUER; SMITH, 2020).

Durante a esterificação, os 3 grupos hidroxila no amido reagem com os grupos carboxila dos ácidos ou anidridos carboxílicos, formando ligações éster (AMINI; MASRURI; ULFA, 2017). Essa reação converte os grupos de hidroxila em grupos de estéres hidrofóbicos, conferindo melhora na hidrofobicidade, processabilidade, flexibilidade e, conseqüentemente, termoplasticidade dos filmes (MATHEUS et al., 2023a).

Promsorn e Harnkarnsujarit, (2022) produziram filmes de base biológica eliminadores de oxigênio para controlar o conteúdo de oxigênio em embalagens de alimentos. Foi utilizado o amido termoplástico (ATP) via extrusão com diferentes teores de ácido gálico (AG) (1–10%) e polietileno linear de baixa densidade (PEBD). O aumento do teor de AG plastificou e facilitou a fusão do amido. Além disso, as taxas de eliminação de oxigênio aumentaram e o oxigênio residual diminuiu linearmente com o conteúdo de GA, inferindo que filmes a base de ATP/PEBD com AG podem ser utilizados como embalagens ativas para controlar o oxigênio em embalagens de alimentos.

c. Eterificação

A eterificação, é uma outra estratégia de modificação no qual grupos éter são introduzidos na estrutura do amido. Nesse procedimento, os grupos de hidroxila são substituídos por carboxil metil, hidroxipropil e/ou outros grupos modificados, formando uma cadeia éter (MATHEUS et al., 2023a; WANG et al., 2020). Em amidos, os estudos sobre a eterificação limitam-se à síntese de hidroxipropil e amidos catiônicos (OJOGBO; OGUNSONA; MEKONNEN, 2020; XIE et al., 2017). O amido modificado catiônico é produzido através da substituição dos grupos funcionais hidroxila do amido por meio da éterificação com grupos que carregam cargas positivas (OJOGBO; OGUNSONA; MEKONNEN, 2020).

A eterificação altera as propriedades do amido, resultando em características como: aumento da solubilidade em água, maior viscosidade e maior estabilidade térmica.

d. Crosslinking

O crosslinking, ou reticulação do amido refere-se ao processo de criação de ligações químicas adicionais entre as moléculas de amido (OJOGBO; OGUNSONA; MEKONNEN, 2020). Essas ligações, conhecidas como pontes de reticulação, são formadas entre os grupos hidroxila (C2, C3 e C6) das moléculas de amido. Normalmente são utilizados agentes reticulantes como dialdeídos e ácido cítrico para criar as ligações cruzadas (WANG et al., 2020).

A reticulação altera as propriedades estruturais, físico-químicas e funcionais do amido, promovendo melhorias em sua resistência mecânica, resistência térmica, propriedades de barreira e estabilidade em relação à água (AMARAWEEERA et al., 2021).

Sun et al. (2019), verificam que a estabilidade ao congelamento-descongelamento, a resistência a ácidos e a estabilidade térmica do amido de mandioca como matéria-prima,

são altamente melhoradas quando o amido de mandioca é reticulado) pelo método simples auxiliado por ultrassom assistido por micro-ondas.

Cada uma dessas categorias representa diferentes abordagens para alterar as propriedades do material em questão por meio de processos químicos. Os impactos da modificação química nas propriedades funcionais do amido abrangem aspectos como solubilidade, poder de inchamento, clareza da pasta, sinérese, comportamento na pastagem, propriedades texturais, térmicas e reológicas (ZHU, 2015).

Colivet; Carvalho, (2017) apresentaram um estudo sobre as propriedades de superfície e microestrutura de filmes produzidos com amidos de mandioca modificados quimicamente. O equilíbrio entre grupos polares e apolares na superfície dos filmes pode afetar a hidrofobicidade, que é uma propriedade importante para a estabilidade dos filmes. De acordo com os autores, a superfície e microestrutura dos filmes de amido de mandioca têm importante relação com as propriedades funcionais, como barreiras contra gases e umidade. Essas características são importantes para a aplicação dos filmes em diversos campos, como na produção de embalagens biodegradáveis, revestimento de alimentos e formulação de produtos farmacêuticos.

Dai; Zhang; Cheng, (2020) investigaram o efeito de três estratégias distintas de modificação no amido de mandioca, abrangendo esterificação, reticulação (crosslinking) e oxidação. Para surpresa, constataram que todas as modificações resultaram em melhorias significativas em praticamente todas as propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água. Notavelmente, o amido de mandioca reticulado destacou-se, com seu filme exibindo maior resistência à tração e alongação na ruptura, juntamente com menor permeabilidade ao vapor de água e um leve aumento no módulo de elasticidade em comparação com o controle não reticulado.

A Tabela 2 apresenta mais exemplos de embalagens à base de amido modificado quimicamente.

Tabela 2 Exemplos de aplicações de amido modificado em embalagens

Tipo de amido	Técnica de Modificação	Principais resultados	Referências
Mandioca	Ozonização	Filmes derivados de fécula de mandioca ozonizada apresentaram resistência à tração e módulo de Young elevados. A permeabilidade ao vapor de água e oxigênio aumentou proporcionalmente ao tempo de ozonização. O processamento com ozônio conferiu uma superfície mais hidrofílica aos filmes. Os filmes ozonizados exibiram menor solubilidade após 24 horas.	La Fuente et al. (2019)
Mandioca	Extrusão e Acetilação	Amido de mandioca com ácido gálico foram utilizados para produção de embalagem absorvedora de oxigênio. O aumento de ácido gálico melhorou a cinética de eliminação de oxigênio. Os teores mínimos de oxigênio residual foi de 16% alcançados em 5 dias a 50°C.	Promsorn; Harnkarnsujarit, (2022)
Mandioca	Oxidação	A espessura do filme aumentou com o aumento da quantidade de amido oxidado adicionado, resultando no aprimoramento da propriedade mecânica. Além disso, a solubilidade do filme em água também diminuiu de 13,48% (filme controle sem amido modificado) para 5,75% (filme com amido oxidado). A adição de amido oxidado resultou em uma maior biodegradabilidade e cinética de absorção de água duradoura	Oluwasina et al. (2019)
Mandioca	Esterificação	Ao misturar amido de mandioca esterificado, nano ZnO de quitosana e, diferentes concentrações de ϵ lisina (ϵ -poli--PL), os filmes bioativos formados reduziram podridão da cereja, ressecamento do caule e perda de peso, manutenção da cor da superfície, aumento do conteúdo de sólidos solúveis.	Zhang et al., (2022)

Mandioca	Acetilação/crosslink	Os filmes produzidos a partir de amido de mandioca acetilado e reticulado mostraram maior hidrofobicidade e melhores propriedades mecânicas do que os filmes de amido de mandioca nativo, enquanto os filmes preparados com amido de mandioca duplamente modificado e acetilado apresentaram menor energia de superfície.	Colivet; Carvalho, (2017)
Batata doce	Esterificação	O filme comestível produzido com amido modificado com pectina associado com CaCl ₂ melhorou as propriedades mecânicas e reduziu a solubilização em água comparado com filme nativo. Além disso, o filme retardou a oxidação lipídica dos alimentos embalados.	Choi et al. (2023)
Banana	Esterificação	Os filmes de amido modificado foram elaborados e sua condutividade elétrica foi 2,9 vezes maior que a do amido nativo. O filme amido/PET apresentou o maior valor na propriedade mecânica de alongamento na ruptura comparado ao filme somente amido. O filme de amido modificado foi degradado acima de 80% por hidrólise aquosa.	Silvia et al. (2021)
Inhame	Oxidação/crosslink	A permeabilidade ao vapor d'água dos filmes com amido de inhame oxidado apresentou redução de 58,04% em relação ao amido nativo. A resistência à tração dos filmes de amido de inhame oxidado apresentou uma diminuição de 17,51% com o aumento da concentração de glicerol.	Narváez-gómez et al., (2021)
Milho	Esterificação, crosslink e dual:Esterificação/crosslink	A desramificação diminuiu substancialmente o alongamento na ruptura dos filmes de amido de 39,2% para 8,4% e a hidroxipropilação diminuiu a resistência à tração de 4,82 para 2,92 MPa, indicando que nem a desramificação nem a hidroxipropilação poderiam melhorar de forma abrangente as propriedades do filme. Após a modificação dupla, o alongamento na ruptura e a resistência à tração do filme aumentaram para 57,2% e 7,35MPa, respectivamente.	Hu et al. (2019)

3.2 Modificação Física

A modificação física do amido é considerada uma abordagem mais segura em comparação com a modificação química, uma vez que não utiliza reagentes químicos (OJOGBO; OGUNSONA; MEKONNEN, 2020). Esta pode ser dividida em dois principais tipos: tratamento térmico e tratamento não térmico.

O tratamento térmico envolve o processamento do amido em diferentes condições de temperatura e umidade, com métodos comuns, como: pré-gelatinização, recozimento, tratamento por micro-ondas e tratamento de calor e umidade (MHASKE et al., 2022). Já o tratamento não térmico, inclui o uso de técnicas como: alta pressão hidrostática, ultrassom, plasma a frio e campo elétrico pulsado. Essas abordagens têm sido exploradas para modificar o amido e adaptá-lo a diversas aplicações de forma mais sustentável e ecológica (KHURSHIDA et al., 2021).

A Tabela 3 apresenta um resumo dessas técnicas e revisões feitas por Alcázar-Alay e Meireles, (2015) e Zia-ud-Din; Xiong; Fei (2017) abordam com detalhes cada uma dessas técnicas aplicadas em amidos de diferentes fontes botânicas.

Tabela 3 Tipos de tratamentos térmicos

Modificação Física		Descrição	Ref
Tratamentos térmicos	Pré-gelatinização	Processo de cozimento até atingir completa gelatinização e subsequentemente um processo de secagem.	Alcázar-Alay; Meireles (2015)
	Tratamento Hidrotérmico	Aquecimento dos grânulos de amido em um ambiente fechado, de baixa umidade e acima da temperatura de transição vítrea.	Zia-Ud-Din; Xiong; Fei (2017)7
	Anelamento	Aquecimento dos grânulos de amido entre a temperatura de transição vítrea e temperatura de gelatinização sob alta umidade	Amaraweera et al. (2021)
	Extrusão	O amido é submetido a altas temperaturas e pressões em uma extrusora, o que causa ruptura das ligações moleculares e rearranjo da estrutura molecular.	Mhaske et al. (2022)
	Microondas	Aquecimento dos grânulos por irradiação de micro-ondas, sem que haja cisalhamento dos grânulos	Bemiller; Huber (2015)
Tratamentos não-térmicos	Alta pressão	Pode ser estática ou hidrostática. Em ambos os casos, há o uso de homogeneizadores que produzem	Amaraweera et al., (2021)

	turbulência, causando cisalhamento através da alta pressão.	
Ultrassom	Degradação das cadeias de amido por ultrassonicação	Zia-Ud-Din; Xiong; Fei (2017)
Plasma a frio	O amido é exposto a um gás parcialmente ionizado e a modificação ocorre apenas na sua estrutura superficial	Ojogbo; Ogunsona; Mekonnen (2020)
Campo elétrico pulsado	Pulsos elétricos de alta intensidade e de curta duração levam um rearranjo molecular intragranular dos grânulos de amido	Zia-Ud-Din; Xiong; Fei (2017)

Esses processos podem alterar a estrutura cristalina do amido, impactando diretamente as propriedades dos filmes produzidos (LONG et al., 2023), pois melhoram sua solubilidade em água e reduzem o tamanho dos grânulos (ALCÁZAR-ALAY; MEIRELES, 2015).

O processo térmico nos grânulos de amido pode resultar em alterações na sua estrutura molecular, levando a uma melhor coesão e, conseqüentemente, aprimoramento propriedades como a resistência mecânica dos filmes (MHASKE et al., 2022). Além disso, o tratamento físico pode influenciar a cristalinidade do amido, afetando sua solubilidade e resistência à umidade, fatores importantes para filmes que serão utilizados como embalagens (MATHEUS et al., 2023a).

Yang et al., (2023) investigaram a relação entre estrutura molecular e propriedades físico-químicas de filmes de amido termoplástico formados a partir de amidos de fontes botânicas diferentes (cereais, tubérculos e legumes). A extrusão termoplástica desestruturou as moléculas de amido durante o processo, o que aumentou a mobilidade de suas moléculas, resultando em maior processabilidade. Isso ocorreu porque as ligações de hidrogênio inter e intramoleculares foram quebradas, assim como a estrutura de hélice dupla das moléculas de amido. Os filmes termoplásticos de amido de mandioca apresentaram uma estrutura mais lisa e amorfa devido ao maior teor de amilopectina, resultando em maior alongamento na ruptura e maior opacidade. A opacidade, protegeu os alimentos embalados da luz, como produtos cárneos.

Filmes preparados com a mistura amido irradiado (20 kGy) /gelatina apresentaram as melhores propriedades mecânicas comparado com filme de amido nativo. O processamento de irradiação do amido reduziu a sinérese. Adicionalmente o suco de

limão (LJ) resultou em filmes com propriedades antioxidantes e antibacterianas (KANATT, 2020).

Uma vantagem significativa da modificação física dos amidos é a capacidade de alterar e melhorar suas propriedades físicas sem modificar sua composição química (MHASKE et al., 2022). Isso pode resultar em uma ampla gama de benefícios, incluindo melhorias na estabilidade térmica, solubilidade e viscosidade, além do aumento da capacidade de gelatinização (OJOGBO; OGUNSONA; MEKONNEN, 2020). Tais modificações contribuem para a criação de embalagens mais eficazes, capazes de resistir a diferentes condições de armazenamento e transporte, garantindo a integridade dos produtos embalados (ZIA-UD-DIN; XIONG; FEI, 2017).

3.3 Modificação Enzimática

A modificação enzimática apesar de ter altos custos, complexidade e exigências de tempo associados, destacam-se por serem mais seguras quando comparadas à modificação química, além de apresentarem maior rendimento e serem ecologicamente amigáveis (MATHEUS et al., 2023a).

As enzimas catalizam reações como: gelatinização, desramificação e isomerização dos amidos, resultando na diminuição da solubilidade e na aprimoração das propriedades térmicas, químicas e mecânicas dos filmes (YU et al., 2021). As quatro principais enzimas envolvidas na modificação do amido são: (i) endoamilases, (ii) exoamilases, (iii) enzimas desramificadoras e (iv) transferases (AMARAWEEERA et al., 2021).

A reação enzimática ocorre predominantemente nas regiões amorfas, como a amilose e nos pontos de ramificação da amilopectina, que também são amorfas, levando à redução das cadeias lineares, ou à formação de novas ligações glicosídicas α -(1,6), resultando no aumento da estabilidade (ASHOGBON, 2021).

Filmes de amido de milho e gelatina tratados pela enzima transglutaminase apresentaram menor solubilidade, maiores resistência à tração, alongamento e umidade quando comparado aos filmes de amido sem tratamento enzimático (ROSSETO et al., 2021).

A hidrólise com amyloglucosidase, gerou poros nos grânulos de amido de milho que ao serem aplicados na formulação do filme por Miao; Zhang; Lu (2021), favoreceu a liberação controlada do composto bioativo.

Embora comprovada melhoras nas propriedades reológica dos amidos, foram encontrados poucos trabalhos nas bases de pesquisa utilizadas (Scopus, PubMed, Science Direct), que utilizassem o mesmo na produção de filmes ou revestimentos.

O amido modificado por enzimas é frequentemente empregado na produção para aplicações tanto alimentícias quanto não alimentícias, incluindo produtos farmacêuticos e sistemas de entrega de medicamentos (PUNIA BANGAR et al., 2022).

A combinação estratégica desses métodos de modificação possibilita a obtenção de filmes à base de amido com propriedades específicas, tornando-os mais competitivos em relação às embalagens tradicionais. O entendimento dessas técnicas é essencial para a evolução contínua e a aplicação eficaz desses materiais na indústria de embalagens de alimentos.

4. PERSPECTIVAS E CONCLUSÃO

Por ser um polissacarídeo amplamente presente na natureza e apresentar uma gama de aplicações, o amido necessita frequentemente de novos estudos que explorem novas propriedades em relação ao amido nativo, principalmente em termos de modificações (FAN; PICCHIONI, 2020).

Conforme apresentado nesta revisão, nas últimas décadas os avanços na tecnologia de embalagens à base de amido modificado têm proporcionado notáveis melhorias nas propriedades mecânicas, de barreira e sustentabilidade desses materiais. A evolução contínua nessa área tem implicações significativas para a indústria de embalagens, promovendo soluções mais ecológicas e eficientes.

O uso de solventes “verdes” (líquidos iônicos), gás CO₂ supercrítico e ozonização vem sendo explorados como opções ecológicas para modificação dos amidos (FAN; PICCHIONI, 2020; LA FUENTE et al., 2019).

A modificação sequencial do amido, ou seja, a combinação de diferentes métodos, também tem se mostrado uma abordagem eficaz para produzir amido modificado com propriedades funcionais específicas em um curto período de tempo e para melhorar as propriedades de revestimentos/filmes a serem usados como embalagens alimentícias (ASHOGBON, 2021; CHENG et al., 2022; HU et al., 2019; KHURSHIDA et al., 2021; NARVÁEZ-GÓMEZ et al., 2021)

Um outro tipo de modificação que vem sendo explorado é a genética. A modificação genética do amido pode ser realizada por meio de técnicas de melhoramento

vegetal tradicionais ou utilizando métodos de biotecnologia que envolvem enzimas relacionadas à biossíntese de amido (KATHURIA; GAUTAM; DATT, 2019). Essas técnicas têm como objetivo alterar as propriedades do amido para finalidades específicas ou novas aplicações, como a obtenção de amido com alto teor de amilose, resultando na produção de filmes mais rígidos e cristalinos (KATHURIA; GAUTAM; DATT, 2019; LAUER; SMITH, 2020).

Os avanços significativos em embalagens à base de amido modificado emergem como uma resposta promissora aos desafios ambientais e às demandas crescentes por soluções sustentáveis. A modificação do amido, seja por processos químicos, físico, enzimático, ou a combinação deles, tem catalisado uma evolução notável, proporcionando melhorias substanciais nas propriedades mecânicas e de barreira desses filmes.

Os recentes progressos na otimização das propriedades mecânicas, como resistência à tração e alongação, são testemunhas da habilidade crescente em adaptar o amido para atender às exigências práticas da indústria de embalagens.

Além disso, a incorporação de nanomateriais e agentes bioativos tem potencializado a estabilidade térmica e mecânica dos filmes e conferindo funcionalidade, elevando os padrões de desempenho. A modificação do amido, aliado a incorporação de aditivos ativos são estratégias eficazes para melhorar as propriedades dos filmes, tornando-os mais competitivos no mercado.

Em suma, os avanços em embalagens à base de amido modificado estão pavimentando o caminho para soluções mais inovadoras, sustentáveis e adaptáveis às necessidades específicas da indústria alimentícia e de embalagens. O compromisso contínuo com a pesquisa e desenvolvimento nesse campo é essencial para impulsionar a evolução e a adoção generalizada dessas tecnologias emergentes.

REFERÊNCIAS

- ALCÁZAR-ALAY, S. C.; MEIRELES, M. A. A. Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. **Food Science and Technology**, v. 35, p. 215–236, jun. 2015.
- AMARAWEEERA, S. M. et al. Development of Starch-Based Materials Using Current Modification Techniques and Their Applications: A Review. **Molecules**, v. 26, n. 22, p. 6880, jan. 2021.
- AMINI, H. W.; MASRURI, M.; ULFA, S. M. Study on Esterification Reaction of Starch Isolated from Cassava (*Manihot Esculenta*) with Acetic Acid and Isopropyl Myristate Using Ultrasonicator. **The Journal of Pure and Applied Chemistry Research**, v. 6, n. 2, p. 93–99, ago. 2017.
- ANCY, A. et al. Development of ecofriendly and sustainable bioplastics from cassava starch: Tailoring the properties using nanoparticles. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 37, p. 101377, 1 fev. 2024.
- ASHOGBON, A. O. Dual modification of various starches: Synthesis, properties and applications. **Food Chemistry**, v. 342, p. 128325, 16 abr. 2021.
- BAO, J. Rice starch. Em: **Rice: Chemistry and Technology**. [s.l: s.n.]. p. 55–108.
- BEMILLER, J. N.; HUBER, K. C. Physical Modification of Food Starch Functionalities. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 19–69, 2015.
- BERTOFT, E.; BLENNOW, A. Structure of Potato Starch. Em: **Advances in Potato Chemistry and Technology**. [s.l: s.n.]. p. 57–73.
- CHANG, L. et al. Structural, physicochemical, antioxidant and in vitro digestibility properties of banana flours from different banana varieties (*Musa spp.*). **Food Bioscience**, v. 47, 2022.
- 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 & Technology**, v. 114, p. 70–82, 1 ago. 2021.
- CHENG, M. et al. Effect of dual-modified cassava starches on intelligent packaging films containing red cabbage extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 124, p. 107225, mar. 2022.
- CHOI, I. et al. Influence of acetylation and chemical interaction on edible film properties and different processing methods for food application. **Food Chemistry**, v. 426, 2023.
- COLIVET, J.; CARVALHO, R. A. Hydrophilicity and physicochemical properties of chemically modified cassava starch films. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 599–607, 1 jan. 2017.
- DAI, L.; ZHANG, J.; CHENG, F. Effects of starches from different botanical sources and modification methods on physicochemical properties of starch-based edible films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 897–905, jul. 2019.

DAI, L.; ZHANG, J.; CHENG, F. Cross-linked starch-based edible coating reinforced by starch nanocrystals and its preservation effect on graded Huangguan pears. **Food Chemistry**, v. 311, p. 125891, 1 maio 2020.

FAN, Y.; PICCHIONI, F. Modification of starch: A review on the application of “green” solvents and controlled functionalization. **Carbohydrate Polymers**, v. 241, 2020.

HERMIATI, E.; SONDARI, D.; SUNARTI, T. C. Extraction and classification of starch from different sources: Structure, properties, and characterization. Em: **Handbook of Natural Polymers, Volume 1: Sources, Synthesis, and Characterization**. [s.l.: s.n.]. p. 19–60.

HU, X. et al. Improving properties of normal maize starch films using dual-modification: Combination treatment of debranching and hydroxypropylation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 130, p. 197–202, 1 jun. 2019.

ISHIMWE, S. **Q&A on certified soil-biodegradable mulch films**. **European Bioplastics e.V.**, 2023. Disponível em: <<https://www.european-bioplastics.org/qa-on-certified-soil-biodegradable-mulch-films/>>. Acesso em: 19 mar. 2024

JANIK, W. et al. Modified polysaccharides for food packaging applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 258, 2024.

KANATT, S. R. Irradiation as a tool for modifying tapioca starch and development of an active food packaging film with irradiated starch. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 173, p. 108873, 1 ago. 2020.

KATHURIA, D.; GAUTAM, S.; DATT, K. Utilization and health benefits of modified starch. v. 9, p. 347–358, 1 jan. 2019.

KHURSHIDA, S. et al. Effect of dual modification sequence on physicochemical, pasting, rheological and digestibility properties of cassava starch modified by acetic acid and ultrasound. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 188, p. 649–656, 1 out. 2021.

LA FUENTE, C. I. A. et al. Ozonation of cassava starch to produce biodegradable films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 141, p. 713–720, 1 dez. 2019.

LACERDA, L. D. et al. Starch Gelatinization Behavior: The Impact of Granular Structure. **Starch/Staerke**, 2024.

LAUER, M. K.; SMITH, R. C. Recent advances in starch-based films toward food packaging applications: Physicochemical, mechanical, and functional properties. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 6, p. 3031–3083, 2020.

LIANG, Q.; GAO, Q. Effect of amylose content on the preparation for carboxymethyl starch/pullulan electrospun nanofibers and their properties as encapsulants of thymol. **Food Hydrocolloids**, v. 136, p. 108250, 1 mar. 2023.

LIU, D. et al. Recent Advances and Applications in Starch for Intelligent Active Food Packaging: A Review. **Foods**, v. 11, n. 18, p. 2879, jan. 2022.

LONG, J. et al. The reduce of water vapor permeability of polysaccharide-based films in food packaging: A comprehensive review. **Carbohydrate Polymers**, v. 321, p. 121267, 1 dez. 2023.

LUCHESE, C. L.; RODRIGUES, R. B.; TESSARO, I. C. Cassava starch-processing residue utilization for packaging development. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 2238–2247, jul. 2021.

MAJEED, T. et al. Role of additives in starch-based edible films and coating: A review with current knowledge. **Progress in Organic Coatings**, v. 181, p. 107597, 1 ago. 2023.

MATHEUS, J. R. V. et al. Biopolymers as green-based food packaging materials: A focus on modified and unmodified starch-based films. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 22, n. 2, p. 1148–1183, 2023a.

MATHEUS, J. R. V. et al. Cassava starch films for food packaging: Trends over the last decade and future research. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 225, p. 658–672, jan. 2023b.

MHASKE, P. et al. Green and clean modification of cassava starch - effects on composition, structure, properties and digestibility. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 28, p. 7801–7826, 2022.

MIAO, Z.; ZHANG, Y.; LU, P. Novel active starch films incorporating tea polyphenols-loaded porous starch as food packaging materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 192, p. 1123–1133, 1 dez. 2021.

NARVÁEZ-GÓMEZ, G. et al. Development and characterization of dual-modified yam (*Dioscorea rotundata*) starch-based films. **Heliyon**, v. 7, n. 4, p. e06644, 1 abr. 2021.

NATIONAL GEOGRAPHIC BRASIL. **Alerta ambiental: é assim que o lixo plástico ameaça a fauna**. Disponível em: <<https://www.nationalgeographicbrasil.com/meio-ambiente/2023/06/alerta-ambiental-e-assim-que-o-lixo-plastico-ameaca-a-fauna>>. Acesso em: 16 mar. 2024.

OJOGBO, E.; OGUNSONA, E. O.; MEKONNEN, T. H. Chemical and physical modifications of starch for renewable polymeric materials. **Materials Today Sustainability**, v. 7–8, p. 100028, 1 mar. 2020.

OLUWASINA, O. O. et al. Influence of oxidized starch on physicomechanical, thermal properties, and atomic force micrographs of cassava starch bioplastic film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 282–293, 2019.

PLASTICS EUROPE. **Plastics – The Fast Facts 2023. Plastics Europe - Enabling a sustainable future**, 2023. Disponível em: <<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2023/>>. Acesso em: 18 mar. 2024

PROMSORN, J.; HARNKARNSUJARIT, N. Oxygen absorbing food packaging made by extrusion compounding of thermoplastic cassava starch with gallic acid. **Food Control**, v. 142, p. 109273, 1 dez. 2022.

- PUNIA BANGAR, S. et al. Enzymatic modification of starch: A green approach for starch applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 287, p. 119265, 1 jul. 2022.
- ROSSETO, M. et al. Accelerated Aging of Starch-Gelatin Films with Enzymatic Treatment. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 29, n. 4, p. 1063–1075, 1 abr. 2021.
- SANTHOSH, R. et al. Starch-based edible packaging: rheological, thermal, mechanical, microstructural, and barrier properties - a review. **Sustainable Food Technology**, 2024.
- SILVIA, R.-C. et al. Modification of banana starch (*Musa paradisiaca* L.) with polyethylene terephthalate: Virgin and bottle waste. **Carbohydrate Research**, v. 508, p. 108401, 1 out. 2021.
- SONDARI, D.; ILTIZAM, I. Effect of hydrogen peroxide on edible film from cassava starch. **AIP Conference Proceedings**, v. 2026, n. 1, p. 020083, 29 out. 2018.
- SUN, J. et al. High-Efficient Preparation of Cross-Linked Cassava Starch by Microwave-Ultrasound-Assisted and its Physicochemical Properties. **Starch - Stärke**, v. 71, n. 7–8, p. 1800273, 2019.
- TRINH, K. S.; DANG, T. B. Structural, Physicochemical, and Functional Properties of Electrolyzed Cassava Starch. **International Journal of Food Science**, v. 2019, p. 9290627, 18 abr. 2019.
- VIANNA, T. C. et al. Essential oils as additives in active starch-based food packaging films: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 182, p. 1803–1819, jul. 2021.
- WANG, X. et al. Research advances in chemical modifications of starch for hydrophobicity and its applications: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 240, p. 116292, jul. 2020.
- WANG, Z. et al. Cassava starch: Chemical modification and its impact on functional properties and digestibility, a review. **Food Hydrocolloids**, v. 129, p. 107542, ago. 2022.
- WARD, C. P.; REDDY, C. M. We need better data about the environmental persistence of plastic goods. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 26, p. 14618–14621, 30 jun. 2020.
- XIE, M. et al. Preparation and characterization of modified and functional starch (hexadecyl corboxymethyl starch) ether using reactive extrusion. **Starch - Stärke**, v. 69, n. 5–6, p. 1600061, 2017.
- YANG, N. et al. The relationship between molecular structure and film-forming properties of thermoplastic starches from different botanical sources. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 230, p. 123114, 1 mar. 2023.
- YU, X. et al. Research progress of starch-based biodegradable materials: a review. **Journal of Materials Science**, v. 56, n. 19, p. 11187–11208, 1 jul. 2021.

ZHANG, J. et al. Preparation of bio-based modified starch film and analysis of preservation mechanism for sweet cherry. **Food Chemistry: X**, v. 16, p. 100490, 30 dez. 2022.

ZHU, F. Composition, structure, physicochemical properties, and modifications of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 456–480, maio 2015.

ZIA-UD-DIN; XIONG, H.; FEI, P. Physical and chemical modification of starches: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 12, p. 2691–2705, 13 ago. 2017.

ZUBAIR, M. et al. Current Trends in the Utilization of Essential Oils for Polysaccharide- and Protein-Derived Food Packaging Materials. **Polymers**, v. 14, n. 6, p. 1146, 13 mar. 2022.

CAPÍTULO II: TÉCNICAS DE ENCAPSULAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO PARA APLICAÇÕES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

GUIMARÃES, M. C. ^{a*}; TEODORO, C. E. S. ^b; SILVA, A. S. ^c; MELO, N. R. ^{a, b}

^a Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, Brazil

^b Departamento de Engenharia de Agronegócios, Universidade Federal Fluminense (UFF), Volta Redonda – RJ, Brazil

^c Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), Campinas - São Paulo, Brazil

Submetido para publicação na versão em inglês.

RESUMO

As ameaças à segurança alimentar e à deterioração causada pela contaminação de microrganismos resultaram em perdas econômicas e doenças transmitidas por alimentos na indústria alimentícia. Portanto, o desenvolvimento de conservantes alimentares naturais é uma necessidade urgente, considerando a segurança dos conservantes sintéticos. Devido às suas excelentes propriedades antioxidantes e antibacterianas, o óleo essencial de tomilho (OET) é visto como um promissor conservante natural. No entanto, a sua volatilidade, baixa solubilidade em água e susceptibilidade à oxidação limitam a sua utilização. O encapsulamento de OEs é uma das opções para reduzir esses efeitos e melhorar suas atividades biológicas. Nesta revisão, é discutida a relevância do encapsulamento do OET, as principais técnicas utilizadas, bem como as aplicações em matrizes alimentares e embalagens de alimentos.

Palavras-chaves: conservação; micropartículas; nanopartículas; timol

ABSTRACT

Threats to food safety and deterioration caused by microbial contamination have resulted in economic losses and foodborne illnesses in the food industry. Therefore, the development of natural food preservatives is an urgent need, considering the safety of synthetic preservatives. Due to its excellent antioxidant and antibacterial properties, thyme essential oil (TEO) is seen as a promising natural preservative. However, its volatility, low solubility in water, and susceptibility to oxidation limit its use. Encapsulation of EOs is one option to reduce these effects and enhance their biological activities. This review discusses the relevance of TEO encapsulation, the main techniques used, as well as applications in food matrices and food packaging.

Keywords: preservation; microparticles; nanoparticles; thymol

1. INTRODUÇÃO

As doenças de origem alimentar causadas por bactérias, fungos, vírus e parasitas e contaminação por produtos químicos tornaram-se uma grande preocupação de saúde global como resultado da globalização e do comércio ativo de alimentos (POSGAY et al., 2022; ZHANG et al., 2023a). Todos os anos, o consumo de alimentos contaminados resulta em cerca de 600 milhões de casos de doenças de origem alimentar e 420.000 mortes (WHO, 2022).

Os conservantes químicos têm sido historicamente utilizados para impedir o crescimento e a multiplicação de microrganismos nos produtos alimentares, mas as preocupações de segurança relativas aos resíduos químicos limitaram a sua utilização na indústria alimentar. Além disso, o uso prolongado de conservantes químicos artificiais pode resultar em resistência microbiana, o que cria sérios problemas para a manutenção da segurança e preservação dos alimentos (HOSSEN et al., 2024). Portanto, investigar conservantes sustentáveis e naturais é uma forma promissora de adiar a deterioração dos alimentos e diminuir a incidência de doenças de origem alimentar.

Nos últimos anos, foram experimentados muitos compostos naturais que mantêm os alimentos frescos e seguros para consumo, incluindo principalmente extratos vegetais, como polifenóis e óleos essenciais (OE) (BASAVEGOWDA; BAEK, 2021). Os OEs vegetais são metabólitos secundários de plantas e na sua maioria com ampla atividade antibacteriana e excelente capacidade antioxidante que são amplamente utilizados no processamento e preservação de alimentos (HOU et al., 2022).

Recentemente, numerosos OEs de plantas, como de orégano, cravo, manjerição, canela, tomilho, hortelã-pimenta, alecrim, pimenta rosa, bem como os componentes monoméricos como eugenol, carvacrol, timol, mentol, cinamaldeído, demonstraram capacidade de conservar alimentos (CARPENA et al., 2021; VIANNA et al., 2021).

O óleo essencial de tomilho (OET) é um OE típico caracterizado por seu sabor picante único, utilizado nas indústrias de aromatização de alimentos e cosméticos. Além disso, este OE possui alto valor medicinal devido às suas propriedades inseticidas, antimicrobianas e antioxidantes (BARROS et al., 2022; GALOVIČOVÁ et al., 2021b). É importante ressaltar que o OET tem um efeito inibitório significativo na maioria dos microrganismos de origem alimentar e, como conservante. O OET possui uma composição química complexa que consiste principalmente timol, p-cimeno, carvacrol e γ -terpineno (RADÜNZ et al., 2020). Tal como outros OEs vegetais, o OET é volátil, facilmente oxidado, facilmente decomposto e insolúvel em água, limitando sua

capacidade de ser utilizado como conservante natural em produtos alimentares (RADÜNZ et al., 2020).

Portanto, para melhorar sua aplicação na indústria alimentar, pesquisas que envolvendo técnicas de encapsulamento para reduzir a sua degradação e controlar a sua taxa de libertação foram estudadas. Além disso, o OET tem um aroma forte e único, que pode afetar o sabor natural dos alimentos quando aplicado diretamente, e seu encapsulamento pode minimizar seu aroma e reduzir os efeitos adversos no sabor dos alimentos (YANG et al., 2022). Os processos comumente usados para encapsular OET incluem secagem por pulverização (*spray drying*) (BARROS et al., 2022), liofilização (AHMED et al., 2023), coacervação complexa (GUIMARÃES et al., 2024), gelificação iônica (MEDINA et al., 2019), nanoemulsões (HE et al., 2022) e eletrospinning (PEIXOTO et al., 2023). Além disso, muitos estudos nos últimos anos relataram a aplicação de OET encapsulado em uma variedade de produtos alimentícios, incluindo frutas e vegetais frescos, carnes e bolos (GONÇALVES et al., 2018; MEDINA et al., 2019; POSGAY et al., 2022; RADÜNZ et al., 2020). Para aumentar a eficácia do OET em aplicações na preservação de alimentos, os atuais esforços de investigação centram-se principalmente na incorporação de formas encapsuladas em filmes de embalagens de alimentos ou revestimentos comestíveis (PEIXOTO et al., 2023; RIBEIRO-SANTOS; ANDRADE; SANCHES-SILVA, 2017).

Embora as pesquisas focadas na aplicação de OET na preservação de alimentos estejam aumentando, até o momento, nenhum trabalho foi realizado delineando o progresso da encapsulação e sistemas de entrega para OET como conservante natural para aplicações de processamento de alimentos. Portanto, este estudo concentra-se no OET, descreve sua composição química e propriedades funcionais, e discute os sistemas de encapsulação utilizados bem como sua aplicação na preservação de alimentos.

2. TOMILHO, VISÃO GERAL

A espécie *Thymus* (também conhecida como tomilho) pertence a família Lamiaceae e é comumente usada como tempero e erva (STEFANAKI; VAN ANDEL, 2021). O tomilho é amplamente distribuído em todo o mundo e tem >200 variedades. A espécie mais importante comercialmente é o *Thymus vulgaris*, conhecido como tomilho comum ou tomilho de jardim. Tem distribuição no oeste do Mediterrâneo e é nativo do sul da Europa, da Espanha à Itália. Outras espécies comercialmente importantes incluem

Thymus zygis (conhecido como tomilho espanhol), *Thymus pulegioides* e *Thymus serpyllum*, as duas últimas espécies de distribuição eurasiática (FERNANDES; TRINDADE; DE MELO, 2018).

O timol - um fenil propileno- é o principal composto de óleo essencial do *Thymus vulgaris* e de outras espécies culinárias de tomilho. Outros compostos voláteis dominantes nos óleos essenciais dessas plantas são: carvacrol, p-cimeno, γ -terpineno e linalol (ABHISHEK BISWAL; PAZHAMALAI, 2021). Os principais componentes estão na Tabela 1.

Tabela 1 Conteúdo percentual dos componentes do óleo de tomilho

Componente	%
α -Thujene	0.2 %–1.5 %
β -Myrcene	1.0 %–3.0 %
α -Terpinene	0.9 %–2.6 %
<i>p</i> -Cymene	14.0 %–28.0 %
γ -Terpinene	4.0 %–12.0 %
Linalool	1.5 %–6.5 %
Terpinen-4-ol	0.1 %–2.5 %
Carvacrol methyl ether	0.05 %–1.5 %
Thymol	37.0 %–55.0 %
Carvacrol	0.5 %–5.5 %

Fonte:Adapatado de (STAHL-BISKUP; VENS Kutonis, 2012)

O óleo de tomilho é obtido principalmente por destilação a vapor, hidrodestilação ou extração com líquido pressurizado das partes aéreas com flores frescas de *Thymus vulgaris* L., *T. zygis* L. ou de uma mistura de ambas as espécies (ABHISHEK BISWAL; PAZHAMALAI, 2021).

O método de hidrodestilação foi empregado para extrair o óleo essencial de *T. zygis* o rendimento foi de 5,25% (FATIMA; KOMALA, 2022). Os compostos bioativos do OET podem ser identificados por cromatografia gasosa – espectrometria de massa (GC – MS). Dependendo da variedade de OET, vários compostos químicos são detectados em GC-MS. Almeida et al. (2023) identificaram 12 compostos químicos do OET de *Thymus vulgaris*. Galovičová et al., (2021a) identificaram mais de 30 compostos químicos de *T. serpyllum*. Diferentes métodos de extração, condições sazonais, fenológicas ou climáticas

podem afetar os principais constituintes químicos dos OEs (STEFANAKI; VAN ANDEL, 2021).

Devido à sua composição química, o OET possui excelente atividade antibacteriana e antioxidante, sendo uma boa base para o desenvolvimento de conservantes e antioxidantes naturais eficazes (COIMBRA; FERREIRA; DUARTE, 2022). Gonçalves et al. (2017) relataram que a concentração mínima inibitória (CMI) do OET foi de 0,60; 0,125; 0,25; 0,20; 0,15 e 0,5 mg/mL para *E. faecium*, *S. aureus*, *A. niger*, *E. coli*, *S. choleraesuis* e *P. aeruginosa*, respectivamente

Além disso, estudos demonstraram que o OET tem atividade antifúngica de amplo espectro e pode ser aplicado contra a deterioração de alimentos devido a contaminações fúngicas em sistemas alimentares, como frutas pós-colheita (COIMBRA; FERREIRA; DUARTE, 2022; MEDINA et al., 2019). A ação antimicrobiana do OET tem sido relacionada à inibição de microrganismos devido à presença do timol, que causa danos às membranas celulares; alteração do perfil lipídico; inibição de ATPases, divisão celular, porinas de membrana, motilidade e formação de biofilme (COIMBRA; FERREIRA; DUARTE, 2022; HOU et al., 2022).

Estudo realizado por Park et al. (2016) mostrou que após 24 horas de fumigação a 11,76 mg de OET/L de O₂, apresentou alta mortalidade de 93,9% e 72,0% contra machos e fêmeas de drosófila de asa manchada (*Drosophila suzukii*), respectivamente. Em relação à toxicidade de contato, após 24 h de tratamento com 7,5 µg de OE/mosca, o óleo exibiu 93,7% de mortalidade contra machos e 77,1% de mortalidade contra fêmeas.

O OET não tem apenas boa atividade antimicrobiana, mas também atividade antioxidante significativa (FERNANDES; TRINDADE; DE MELO, 2018; PEIXOTO et al., 2023; RADÜNZ et al., 2020). Existe uma correlação entre a composição química e a atividade antioxidante, estudos demonstraram a superioridade do poder antioxidante dos óleos essenciais com carvacrol, timol (BOUTAKIOUT et al., 2022; COIMBRA; FERREIRA; DUARTE, 2022). Os fenólicos operam como agentes redutores, doadores de hidrogênio e doadores únicos de oxigênio devido às suas propriedades redox (RADI et al., 2022).

O óleo essencial de tomilho, conforme apresentado, apresenta excelentes propriedades antioxidantes e antibacterianas, sendo considerado um promissor conservante natural. No entanto, sua utilização é limitada devido à sua volatilidade, baixa solubilidade em água e susceptibilidade à oxidação. Por meio do processo de encapsulamento, é possível superar essas limitações, protegendo o OET de fatores

externos que poderiam comprometer sua eficácia, como a exposição ao oxigênio e à umidade. Além disso, a encapsulação permite controlar a liberação do OET, garantindo uma eficácia prolongada e controlada ao longo do tempo.

3. TÉCNICAS DE ENCAPSULAMENTO

O encapsulamento é uma técnica na qual a substância (ativo de interesse) é envolvida por uma matriz ou parede, formando uma estrutura semelhante a uma cápsula (ZHANG et al., 2023a) (Figura 1). Essa parede pode ser composta de diferentes materiais, como polímeros, lipídios ou proteínas, e tem o objetivo de proteger a substância encapsulada, controlar sua liberação e melhorar sua estabilidade (FERNANDES et al., 2022). O encapsulamento é frequentemente utilizado para proteger ingredientes sensíveis, como aromas, compostos bioativos ou medicamentos, garantindo sua eficácia e prolongando sua vida útil (SUNDAR; PARIKH, 2023).

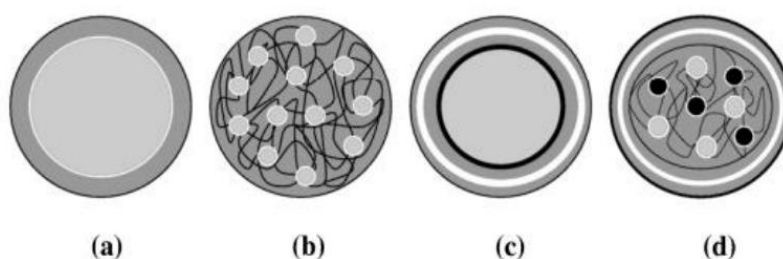


Figura 1 Morfologia de micropartículas obtidas por microencapsulação: (a) microcápsula, (b) microesfera, (c) Microcápsula multicamada, (d) microesfera multicamada e multinuclear.

Uma etapa crucial antes do encapsulamento é a formação de emulsões. Uma emulsão é uma mistura de dois líquidos imiscíveis, onde um deles (a fase dispersa) é disperso em forma de pequenas gotículas no outro (a fase contínua). Emulsificantes são frequentemente usados para estabilizar essa mistura, prevenindo a separação das fases. As emulsões podem ser óleo em água (O/A), onde o óleo é a fase dispersa, ou água em óleo (A/O), onde a água é a fase dispersa. A formação de emulsões é essencial para garantir a homogeneidade e a eficiência do encapsulamento, melhorando a estabilidade e a biodisponibilidade dos compostos bioativos (FERNANDES et al., 2022)

O encapsulamento influencia algumas propriedades físico-químicas dos óleos essenciais, incluindo estabilidade, propriedades de liberação, características sensoriais e atividade antimicrobiana. A extensão da influência variará com base da técnica de

encapsulamento adotada bem como da escolha da parede material e tipo de óleo essencial sendo encapsulado (MORAES-LOVISON et al., 2017; SUNDAR; PARIKH, 2023).

A seleção da técnica de encapsulamento depende do material de recheio da cápsula (material a ser encapsulado), do tamanho desejado das partículas e da aplicação e mecanismo de liberação do material protegido pretendido (SALVADORI et al., 2019).

Por ser a parede que manterá o ativo protegido do meio, ou ainda, ser a matriz onde o ativo estará distribuído, a escolha do material encapsulante deve seguir alguns critérios; como por exemplo: baixa viscosidade em altas concentrações, ser de fácil manipulação durante o processo, não ser altamente higroscópico, transformar líquido em sólido para uso em sistemas secos, não ser reativo com a substância a ser encapsulado e, principalmente, proteger o ativo quanto às condições adversas (luz, pH, oxigênio, calor e outros compostos presentes) e ainda, possuir as propriedades desejadas de liberação do encapsulado; além de não possui sabor e ter baixo custo (PRAKASH et al., 2018).

A liberação dos agentes ativos incorporados nas partículas pode ocorrer através da ruptura mecânica, mediante ação da temperatura e do pH, por meio da biodegradação, pela solubilidade no meio e por difusão (SALVADORI et al., 2019). A tabela 2 apresenta estudos de encapsulação do OET por diferentes técnicas.

Tabela 2 Técnicas de encapsulamento para o Óleo essencial de tomilho (OET)

Técnica	Polímeros	Propriedades	Microrganismos testados	Aplicação	Referências
Coacervação complexa	gelatina e goma arábica	Antimicrobiano	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus hirae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Aspergillus niger</i>	Bolo	(GONÇALVES et al., 2017b)
Coacervação complexa	gelatina e goma arábica	Antimicrobiano	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Penicillium sp.</i>	Embalagem de amido de mandioca	(GUIMARÃES et al., 2024)
Coacervação complexa	β -Cyclodextrina e goma arábica	Antimicrobiano	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Pen z. e <i>Botryodiplodia theobromae</i> Pat.	Embalagem para manga	(CAI et al., 2020)
Eletrofiação	Zeína	Antioxidante e Antimicrobiano	<i>Staphylococcus aureus</i>	Embalagem para Carne moída	(PEIXOTO et al., 2023)

Coacervação complexa	γ -ciclodextrina	Antimicrobiano	<i>S. typhimurium</i> e <i>L. monocytogenes</i> ,	Filmes de nanoplacas tricamadas de polilactida/óleo de tomilho/grafeno	(AHMED et al., 2023)
Nanoemulsão	Cloreto de hexadecilpiridínio monohidratado	Antimicrobiano	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 e <i>Staphylococcus aureus</i>	-	(HE et al., 2022)
Nanoemulsão	Tween 80, Dodecilsulfato de sódio e cloreto de cetilpiridínio	Antimicrobiano	<i>Escherichia coli</i>	-	(YANG et al., 2022)
Spray drying	caseína e maltodextrina	Antioxidante e Antimicrobiano	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Salmonella Typhimurium</i>	Hamburguer	(RADÜNZ et al., 2020)
Spray drying	caseína e maltodextrina	Inseticida	<i>Sitophilus zeamais</i>	Grãos de milho	(BARROS et al., 2022)
Gelificação Iônica	Quitosana e ácido cítrico	Antimicrobiano	<i>S. aureus</i> , <i>S. typhimurium</i> e <i>L. innocua</i> , <i>Botrytis cinerea</i>	Filmes de Quinoa/Quitosana aplicados em Mirtillos e Tomates cereja	(MEDINA et al., 2019)
Eletrofiação	Amido e ácido fórmico	Antioxidante	-	Nanofibras	(FONSECA et al., 2020)

3.1 Spray Drying

O processo de secagem por pulverização (*spray drying*) é um método de microencapsulação usado nas indústrias de alimentos e farmacêutica para produzir pós secos (BECERRIL; NERÍN; SILVA, 2020) (Figura 2).

O processo de *spray drying* envolve os seguintes passos:

- Atomização: a emulsão (solução aquosa com material de parede + composto bioativo) é atomizada em pequenas gotas usando um dispositivo de pulverização, como um bico pulverizador, para criar uma grande área de superfície exposta ao ar.
- Secagem: As gotas atomizadas são introduzidas em uma câmara de secagem, onde estão expostas a um fluxo de ar quente. Este ar quente evapora rapidamente a umidade das gotículas, resultando em partículas sólidas secas.
- Coleta: As partículas secas são coletadas por ciclones, filtros ou outros dispositivos de coleta.

Fatores como as propriedades dos materiais de parede e do núcleo, o fluxo de ar e a temperatura de entrada, a umidade e a viscosidade da solução têm impacto na eficiência de encapsulação. A técnica apresenta algumas desvantagens como: temperatura alta, o número limitado de materiais de parede adequados e os pós resultantes não são uniformes em tamanho (KUREK et al., 2021; SUNDAR; PARIKH, 2023).

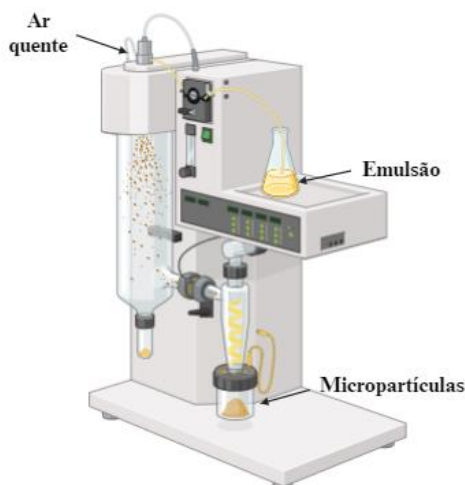


Figura 2 Representação esquemática do processo de Spray drying. Fonte: Autoria própria

Radünz et al. (2020) investigaram o impacto da microencapsulação por spray drying (SD) nas propriedades antioxidantes e antimicrobianas do OET. Os pesquisadores examinaram a microencapsulação do OET utilizando caseína e maltodextrina (MD) como materiais encapsulantes e compararam suas atividades antimicrobianas e antioxidante

com o OE livre. O OET encapsulado demonstrou atividade antioxidante e antibacteriana tanto experimentalmente *in vitro* quanto *in situ* contra *L. monocytogenes*, *E. coli* e *S. typhimurium*. Adicionalmente, a encapsulação do OET controlou o crescimento de *E.coli* em carnes de hambúrguer por 14 dias enquanto o OET livre esse controle foi de 7 dias. Esses resultados confirmam a eficácia do encapsulamento do OET no controle de liberação do óleo, podendo ser utilizado como conservante em produtos cárneos.

3.2 Coacervação complexa

A coacervação é uma técnica útil para encapsular óleos essenciais. ‘Coacervação’ é um termo usado na química coloidal para denotar o processo de separação de fase associativa induzido pela modificação do ambiente de mídia (pH, força iônica, temperatura, solubilidade) sob condições controladas. A fase mais concentrada no componente coloidal é o coacervado, e a outra fase é a solução de equilíbrio (TIMILSENA et al., 2019).

De acordo com Mukurumbira et al., (2022). O encapsulamento via coacervação complexa geralmente consiste em quatro etapas (Figura 3):

- a) emulsificação,
- b) coacervação/separação de fases
- c) gelificação (produção de parede de casca) e;
- d) solidificação (reticulação), se necessário.

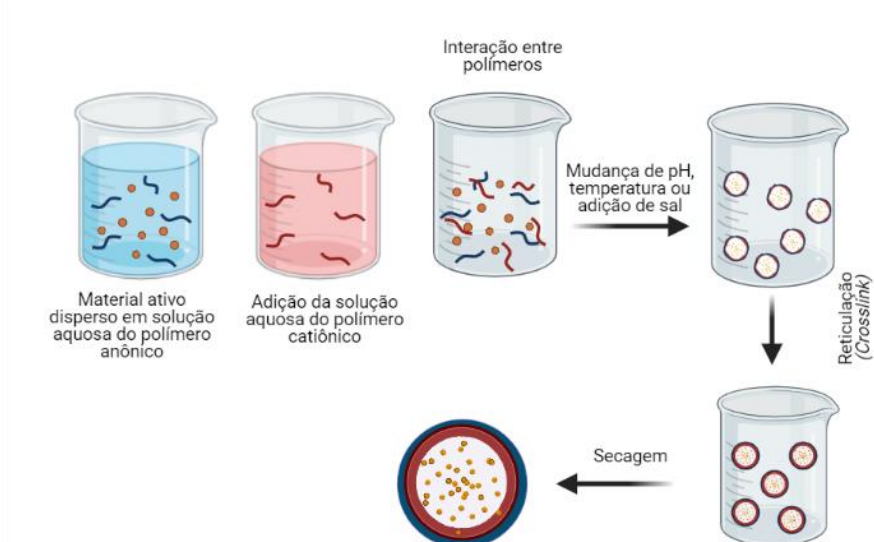


Figura 3 Representação esquemática da técnica de coacervação complexa. Fonte: Autoria própria.

Um ponto crítico da técnica é otimizar as concentrações do material de parede e do reticulante para se adequar à concentração mínima de atividade antimicrobiana e/ou

antioxidante do óleo. A concentração do OE influencia na eficiência de encapsulamento, com aumento da concentração do óleo, ela ultrapassa a quantidade de material de parede, tornando-se assim insuficiente para encapsular todas as gotículas de óleo, consequentemente, afetando a eficiência de encapsulação (MUKURUMBIRA et al., 2022).

Apesar de ser uma técnica de custo elevado e que envolve a otimização de vários parâmetros de processamento, a tecnologia de coacervação complexa oferece inúmeras vantagens como: uma carga útil elevada de ingredientes principais, alto rendimento, proteção adequada à compostos funcionais voláteis e de alto valor, uma vez que tem condições de preparação suave e excelentes características de liberação controlada, sendo as microcápsulas resultantes imiscíveis em água (REN et al., 2023).

Ao utilizar a técnica de coacervação complexa para encapsular OET com β -ciclo dextrina, Viacava et al. (2018) compararam as micropartículas com óleo livre como antioxidante natural e agente antimicrobiano para melhorar a qualidade e a vida útil da alface minimamente processada durante o armazenamento refrigerado. Os tratamentos com óleo essencial livre não reduziram a carga microbiana da alface, ao contrário dos tratamentos com óleo essencial encapsulado em β -ciclodextrina (TO: β -CD), que mostraram efeito bacteriostático contra bactérias mesófilas e psicrófilas, além de reduzirem as contagens de Enterobacteriaceae, leveduras e bolores ao longo do armazenamento. Além disso, as alfaces tratadas com TO: β -CD apresentaram melhor qualidade organoléptica em comparação com as alfaces tratadas com TO livre. Isso sugere que as microcápsulas TO: β -CD podem ser eficazes para controlar a deterioração e melhorar os benefícios antioxidantes da alface minimamente processada.

3.3 Eletrofiação

O processamento eletro-hidrodinâmico (também conhecido como *eletrospun* ou *electrospray*) tem por propósito atomizar líquidos por meio de forças elétricas. Ações eletro-hidrodinâmicas, onde soluções de polímeros são concentradas e pulverizadas através de campo elétrico de alto potencial, com intuito de se obter fibras ou partículas (RENTERÍA-ORTEGA et al., 2021) (Figura 4).

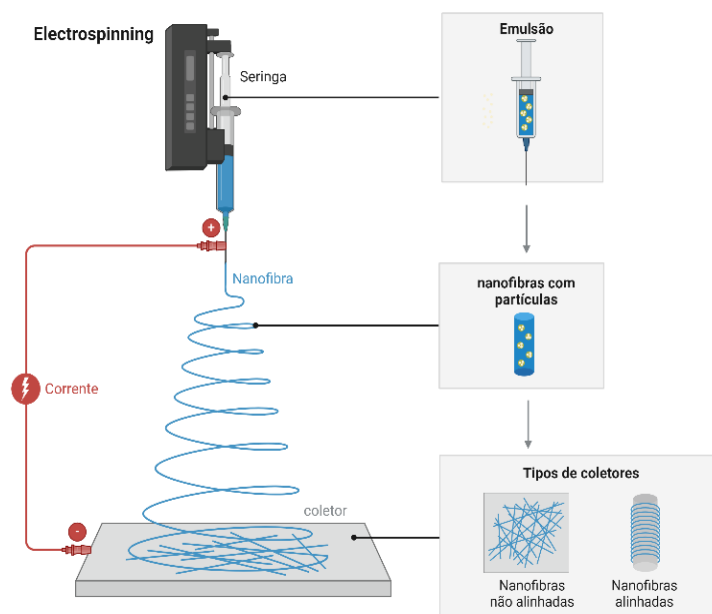


Figura 4 Representação esquemática da técnica de Eletrofiiação. Fonte: Autoria própria.

No caso do *eletrospray* este surge como uma alternativa inovadora pela sua capacidade de ultrapassar alguns dos desafios associados a processos de encapsulação de substâncias susceptíveis a deterioração por calor, como é o caso dos óleos essenciais. O processo pode ser realizado a partir de uma solução aquosa, à temperatura ambiente e sem coagulação química, e que permite produzir estruturas à micro ou nano escala, onde existe um processo “simultâneo” de encapsulação e secagem (AZIMI et al., 2020).

O ponto crítico dessa técnica está na otimização dos parâmetros. A concentração e viscosidade ideais do polímero são necessárias para permitir entrelaçamento suficiente das cadeias e tensão superficial necessária para produzir nanofibras uniformes e sem grânulos (LIANG; GAO, 2023). Na eletrofiiação, uma baixa voltagem pode produzir pequenos grânulos e nanofibras, enquanto uma alta voltagem pode produzir nanofibras grossas e heterogêneas (GÜNEŞ ÇIMEN et al., 2022). Além disso, a morfologia das nanofibras é influenciada pela taxa de fluxo da solução.

Ansarifar e Moradinezhad (2022) encapsularam o óleo essencial de tomilho por eletrofiiação utilizando fibra de zeína para preservação de morangos. Os autores constataram que o uso das fibras como embalagem ativa para armazenamento de morangos, foi possível preservar as características bioquímicas e microbianas da fruta, reduzindo a contagem de bactérias, fungos e leveduras e preservando a capacidade antioxidante dos morangos após 15 dias de armazenamento a 4°C.

3.4 Nanoemulsão

Emulsão é uma dispersão coloidal heterogênea, ou seja, dois líquidos que normalmente não se misturam (imiscíveis). Um líquido (fase dispersante) é disperso em pequenas gotículas no outro líquido circundante, chamado de fase contínua (GUCHHAIT; SARMA, 2024).

Nanoemulsões são emulsões, cujo tamanho de suas gotículas geralmente variam de 20 a 200nm e requerem a adição de um emulsificante para alcançar estabilidade e evitar a separação de fases dos líquidos imiscíveis (SAXENA et al., 2017). A técnica envolve a produção de uma emulsão e esta é submetida a forças externas com alta entrada de energia através de equipamentos como: homogeneizadores de alta pressão, microfluidizadores e ultrassonicadores, que quebram gotículas maiores em gotículas menores (Figura 5).

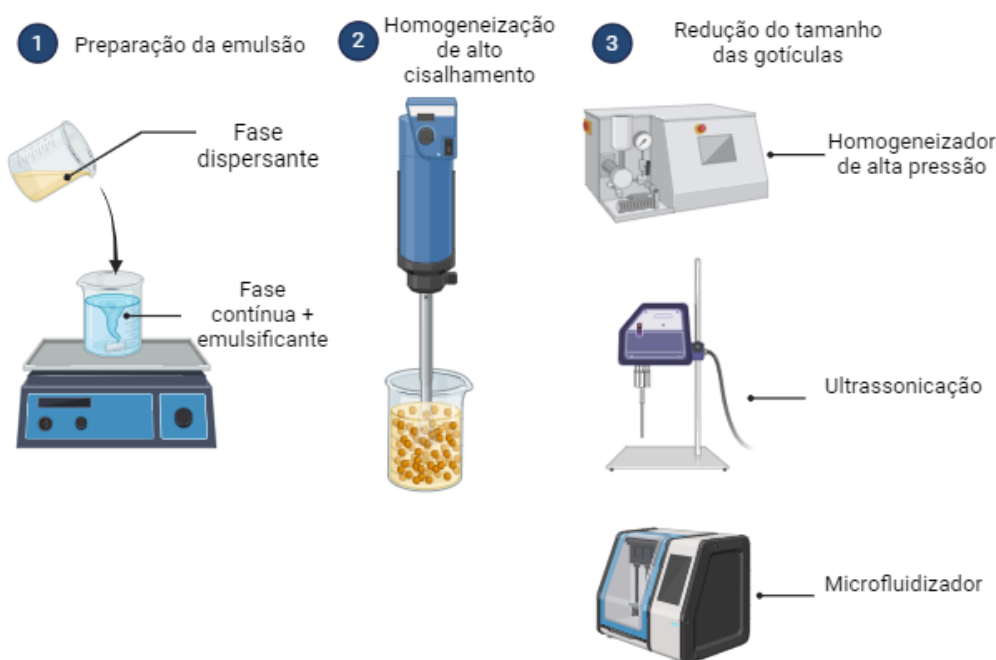


Figura 5 Representação esquemática da técnica Nanoemulsão. Fonte: Autoria própria.

Esta técnica vem sendo cada vez mais utilizadas para encapsular, proteger e fornecer ingredientes lipofílicos (ACEVEDO-FANI et al., 2015). Óleo em água (o/a) e água em óleo (a/o) são os dois sistemas de nanodispersão que são comumente utilizados para encapsulamento. Os óleos essenciais, emulsões de óleo em água são mais utilizadas (SUNDAR; PARIKH, 2023).

O tamanho abaixo de 100nm das partículas em nanoemulsões tem duas vantagens importantes como a possibilidade de melhorar as propriedades físico-químicas e de estabilidade e a capacidade de melhorar a atividade biológica dos compostos

lipofílicos aumentando a área da superfície em quantidade de massa (PRAKASH et al., 2018).

Em estudo realizado por Acevedo-Fani et al. (2015), filmes de alginato contendo nanoemulsões de óleo essencial de tomilho demonstraram uma potente atividade inibitória contra *E. coli*, ao passo que aqueles que continham nanoemulsões de outros OEs (sálvia e capim-limão) não apresentaram qualquer atividade antimicrobiana quanto encapsulados. Os pesquisadores atribuíram essa alta atividade antimicrobiana dos filmes com tomilho às propriedades do timol, seu principal componente, que provoca alterações na membrana celular.

Em outro estudo, tomates cereja foram protegidos contra o apodrecimento causado pelo fungo o *Botrytis cinerea* ao serem revestidos em nanoemulsões de tomilho. Um filme comestível de quitosana contendo nanoemulsão de tomilho retardou consideravelmente o crescimento de fungos nos tomates cereja após 7 dias de armazenamento a 5°C (ROBLEDO et al., 2018).

3.5 Gelificação Iônica

É uma técnica simples, econômica e eficiente. Neste processo, partículas carregadas com OEs são produzidas em duas etapas (HOSSEN et al., 2024):

- a) formação de emulsão óleo-em-água e;
- b) gelificação iônica dessa emulsão com agentes gelificantes, como cloreto de cálcio (CaCl).

A gelificação iônica utiliza uma solução de biopolímero contendo o material de interesse e através de um bocal de alta pressão, faz-se o gotejar sobre uma solução de carga oposta, acontecendo a gelificação (Figura 6).

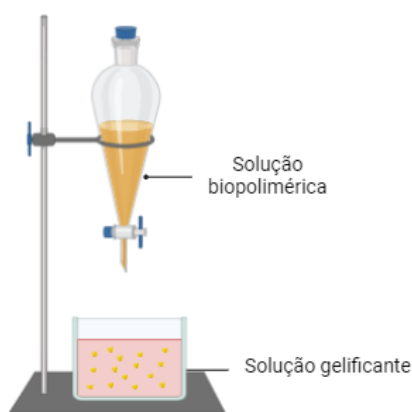


Figura 6 Representação esquemática da técnica de Gelificação Iônica. Fonte: Autoria própria.

A gelificação ocorre por meio da difusão de cátions para o interior da solução de hidrocoloide (REIS et al., 2021). Assim, ao misturar duas soluções de macromoléculas de cargas opostas, os complexos de polieletrólitos são formados devido às interações eletrostática entre os íons.

Uma limitação significativa deste método é o tamanho considerável das cápsulas formadas, variando entre 500µm e 3mm. O tamanho das mesmas é dependente do tamanho do diâmetro da agulha utilizada, da viscosidade e concentração da solução biopolimérica, e da distância entre a seringa e a solução iônica (REIS et al., 2021).

Com intuito de reduzir essa limitação, pesquisas vêm sendo realizadas e demonstraram que equipamentos extrusores com bicos múltiplos, discos aspersores e fluxo de ar comprimido diminuem o tamanho das partículas (HADIDI et al., 2020; MELO et al., 2018).

O estudo realizado por Medina et al., (2019) teve como objetivo aprimorar a eficácia de filmes comestíveis à base de proteína de quinoa/quitosana na prolongação da vida útil pós-colheita de mirtilos e tomates cereja, mediante a adição de nanopartículas de quitosana e timol preparadas por gelificação iônica. As nanopartículas mostraram eficácia na inibição do crescimento do fungo *Botrytis cinerea*. Os filmes contendo nanopartículas apresentaram uma redução significativa na permeabilidade ao vapor de água em comparação com filme contendo óleo de girassol livre e filme sem óleo. Além disso, esses filmes foram aplicados como revestimento em recipientes PET para armazenar os mirtilos e tomates cereja, resultando em uma perda de peso significativamente menor em comparação com os recipientes PET não modificados durante o armazenamento por 10 dias a 7°C e 85% de umidade relativa.

4. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

OET é um conservante alimentar natural promissor como agente antimicrobiano e antioxidante derivado de plantas. Este trabalho mostrou que a estabilidade e as propriedades de liberação controlada do OET podem ser melhoradas através de vários sistemas de encapsulamento e entrega, aumentando assim a capacidade do OET de prolongar a vida útil dos produtos alimentícios. As propriedades de diferentes sistemas de encapsulamento e distribuição variam e incluem *spray drying*, coacervação complexa, eletrofiação, nanoemulsão e gelificação iônica. Os estudos atuais concentram-se na

otimização de processos e nas propriedades dos sistemas de encapsulamento OET e em aplicações práticas de preservação de alimentos. Além disso, o OET tem um sabor característico forte, e estudos futuros devem concentrar-se no efeito de diferentes sistemas de entrega no mascaramento do seu sabor.

A utilização de OEs encapsulados está alinhada com os princípios da economia circular, que promove o uso eficiente dos recursos naturais e a redução do desperdício. Esses conservantes naturais, como OET, podem ser encapsulados em materiais biodegradáveis, como aqui apresentado, proporcionando uma liberação controlada e prolongada de seus benefícios antimicrobianos e antioxidantes. Isso não apenas prolonga a vida útil dos alimentos, reduzindo o desperdício, mas também promove uma abordagem mais sustentável em comparação com conservantes sintéticos. Além disso, a utilização de conservantes naturais pode contribuir para a saúde e o bem-estar dos consumidores, oferecendo uma alternativa mais saudável e segura. Portanto, a adoção de conservantes naturais encapsulados não só beneficia o meio ambiente, ao reduzir o uso de substâncias químicas prejudiciais, mas também promove uma economia mais sustentável e resiliente.

REFERÊNCIAS

- ABHISHEK BISWAL, R.; PAZHAMALAI, V. Chapter 13 - Thymol. Em: MUSHTAQ, M.; ANWAR, F. (Eds.). **A Centum of Valuable Plant Bioactives**. [s.l.] Academic Press, 2021. p. 275–290.
- ACEVEDO-FANI, A. et al. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 47, p. 168–177, 1 maio 2015.
- AHMED, J. et al. Morphological, thermo-mechanical, and barrier properties of coextruded multilayer polylactide composite films reinforced with graphene nanoplatelets and encapsulated thyme essential oil. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 40, p. 101179, 1 dez. 2023.
- ALMEIDA, J. M. et al. Antimicrobial action of Oregano, Thyme, Clove, Cinnamon and Black pepper essential oils free and encapsulated against foodborne pathogens. **Food Control**, v. 144, p. 109356, 1 fev. 2023.
- ANSARIFAR, E.; MORADINEZHAD, F. Encapsulation of thyme essential oil using electrospun zein fiber for strawberry preservation. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 9, n. 1, p. 2, 13 jan. 2022.
- AZIMI, B. et al. Bio-Based Electrospun Fibers for Wound Healing. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 11, n. 3, p. 67, set. 2020.
- BARROS, F. A. P. et al. Efficacy of encapsulated and non-encapsulated thyme essential oil (*Thymus vulgaris* L.) in the control of *Sitophilus zeamais* and its effects on the quality of corn grains throughout storage. **Crop Protection**, v. 153, p. 105885, 1 mar. 2022.
- BASAVEGOWDA, N.; BAEK, K.-H. Synergistic Antioxidant and Antibacterial Advantages of Essential Oils for Food Packaging Applications. **Biomolecules**, v. 11, n. 9, p. 1267, 2 set. 2021.
- BECERRIL, R.; NERÍN, C.; SILVA, F. **Encapsulation systems for antimicrobial food packaging components: An update**. *Molecules* MDPI AG, , 3 mar. 2020.
- BOUTAKIOUT, A. et al. Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oil and Phytochemical Screening of Extracts of Aerial Parts of *Thymus atlanticus*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 25, n. 2, p. 356–368, 4 mar. 2022.
- CAI, C. et al. Effect of starch film containing thyme essential oil microcapsules on physicochemical activity of mango. **LWT**, v. 131, p. 109700, 1 set. 2020.
- CARPENA, M. et al. Essential Oils and Their Application on Active Packaging Systems: A Review. **Resources**, v. 10, n. 1, p. 7, jan. 2021.
- COIMBRA, A.; FERREIRA, S.; DUARTE, A. P. Biological properties of *Thymus zygis* essential oil with emphasis on antimicrobial activity and food application. **Food Chemistry**, v. 393, p. 133370, 1 nov. 2022.

FATIMA, F.; KOMALA, M. Preparation, characterization, in vitro evaluation, cytotoxic and antitumor activity of rubitecan inclusive liposomes with 2-hydroxy propyl- β -cyclodextrins as potential antitumor drug delivery system. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 16, n. 2s, p. 15–24, 2022.

FERNANDES, B. C. N. et al. Prospection of the use of encapsulation in food packaging. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 3, p. 2309–2334, 2022.

FERNANDES, R. DE P. P.; TRINDADE, M. A.; DE MELO, M. P. Chapter 2 - Natural Antioxidants and Food Applications: Healthy Perspectives. Em: HOLBAN, A. M.; GRUMEZESCU, A. M. (Eds.). **Alternative and Replacement Foods**. Handbook of Food Bioengineering. [s.l.] Academic Press, 2018. p. 31–64.

FONSECA, L. M. et al. Electrospun potato starch nanofibers for thyme essential oil encapsulation: antioxidant activity and thermal resistance. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 11, p. 4263–4271, 2020.

GALOVIČOVÁ, L. et al. Thymus serpyllum Essential Oil and Its Biological Activity as a Modern Food Preserver. **Plants (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 7, p. 1416, 11 jul. 2021a.

GALOVIČOVÁ, L. et al. Thymus vulgaris Essential Oil and Its Biological Activity. **Plants (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 9, p. 1959, 19 set. 2021b.

GONÇALVES, N. D. et al. Encapsulated thyme (Thymus vulgaris) essential oil used as a natural preservative in bakery product. **Food Research International**, v. 96, p. 154–160, jun. 2017.

GONÇALVES, N. D. et al. Comparison of microparticles produced with combinations of gelatin, chitosan and gum Arabic. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, p. 427–432, set. 2018.

GUCHHAIT, S. K.; SARMA, A. K. 3 - Application of nanoemulsion in food and packaging industry. Em: JHA, M.; HUSSAIN, C. M.; KAILASAM, K. (Eds.). **Industrial Applications of Nanoemulsion**. Micro and Nano Technologies. [s.l.] Elsevier, 2024. p. 49–75.

GUIMARÃES, M. C. et al. Effect of microencapsulated Thyme (thymus vulgaris) essential oil on the antimicrobial and physicochemical properties of starch food packaging. 2024.

GÜNEŞ ÇİMEN, C. et al. Enhancement of PCL/PLA Electrospun Nanocomposite Fibers Comprising Silver Nanoparticles Encapsulated with Thymus Vulgaris L. Molecules for Antibacterial and Anticancer Activities. **ACS biomaterials science & engineering**, v. 8, n. 9, p. 3717–3732, 12 set. 2022.

HADIDI, M. et al. Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, p. 116075, 15 maio 2020.

HE, Q. et al. Antibacterial mechanisms of thyme essential oil nanoemulsions against Escherichia coli O157:H7 and Staphylococcus aureus: Alterations in membrane

compositions and characteristics. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 75, p. 20, jan. 2022.

HOSSEN, M. A. et al. Essential oil-loaded biopolymeric particles on food industry and packaging: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 265, p. 130765, 1 abr. 2024.

HOU, T. et al. Essential oils and its antibacterial, antifungal and anti-oxidant activity applications: A review. **Food Bioscience**, v. 47, p. 101716, 1 jun. 2022.

KUREK, M. et al. Novel functional chitosan and pectin bio-based packaging films with encapsulated *Opuntia-ficus indica* waste. **Food Bioscience**, v. 41, p. 100980, jun. 2021.

LIANG, Q.; GAO, Q. Effect of amylose content on the preparation for carboxymethyl starch/pullulan electrospun nanofibers and their properties as encapsulants of thymol. **Food Hydrocolloids**, v. 136, p. 108250, 1 mar. 2023.

MEDINA, E. et al. Chitosan thymol nanoparticles improve the antimicrobial effect and the water vapour barrier of chitosan-quinoa protein films. **Journal of Food Engineering**, v. 240, p. 191–198, 1 jan. 2019.

MELO, N. F. C. B. et al. Effects of fungal chitosan nanoparticles as eco-friendly edible coatings on the quality of postharvest table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 139, p. 56–66, 1 maio 2018.

MORAES-LOVISON, M. et al. Nanoemulsions encapsulating oregano essential oil: Production, stability, antibacterial activity and incorporation in chicken pâté. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 233–240, 1 abr. 2017.

MUKURUMBIRA, A. R. et al. Encapsulation of essential oils and their application in antimicrobial active packaging. **Food Control**, v. 136, p. 108883, jun. 2022.

PARK, C. G. et al. Insecticidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of Lamiaceae plant essential oils and their major components against *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 507–513, 30 out. 2016.

PEIXOTO, E. C. et al. Antimicrobial active packaging for meat using thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) encapsulated on zein ultrafine fibers membranes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 51, p. 102778, 1 ago. 2023.

POSGAY, M. et al. Effect of *Thymus vulgaris* L. essential oil and thymol on the microbiological properties of meat and meat products: A review. **Heliyon**, v. 8, n. 10, p. e10812, 1 out. 2022.

PRAKASH, B. et al. **Nanoencapsulation: An efficient technology to boost the antimicrobial potential of plant essential oils in food system.** Food Control Elsevier Ltd, , 1 jul. 2018.

RADI, F. ZAHRAE et al. Phytochemical Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Thymus zygis* L. and *Thymus wilddenowii* Boiss. Essential Oils. **Plants**, v. 11, n. 1, p. 15, jan. 2022.

RADÜNZ, M. et al. Antimicrobial potential of spray drying encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil on the conservation of hamburger-like meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 330, p. 108696, 2 out. 2020.

REIS, A. A. et al. Encapsulação por gelificação iônica: Uma Revisão Narrativa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos: pesquisa e práticas contemporâneas**, v. 2, n. 1, p. 503–516, out. 2021.

REN, X. et al. Microencapsulation by complex coacervation processes. Em: **Microencapsulation in the Food Industry**. [s.l.] Elsevier, 2023. p. 169–193.

RENTERÍA-ORTEGA, M. et al. Glucose oxidase release of stressed chia mucilage-sodium alginate capsules prepared by electrospraying. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 5, p. 1–12, maio 2021.

RIBEIRO-SANTOS, R.; ANDRADE, M.; SANCHES-SILVA, A. Application of encapsulated essential oils as antimicrobial agents in food packaging. **Current Opinion in Food Science**, Food Microbiology • Functional Foods and Nutrition. v. 14, p. 78–84, 1 abr. 2017.

ROBLEDO, N. et al. Thymol nanoemulsions incorporated in quinoa protein/chitosan edible films; antifungal effect in cherry tomatoes. **Food Chemistry**, v. 246, p. 211–219, 25 abr. 2018.

SALVADORI, N. M. et al. **Técnicas de encapsulação para óleos essenciais**. [s.l.: s.n.].

SAXENA, A. et al. Chapter 7 - Technological Aspects of Nanoemulsions and Their Applications in the Food Sector. Em: OPREA, A. E.; GRUMEZESCU, A. M. (Eds.). **Nanotechnology Applications in Food**. [s.l.] Academic Press, 2017. p. 129–152.

STAHL-BISKUP, E.; VENSKUTONIS, R. P. 27 - Thyme. Em: PETER, K. V. (Ed.). **Handbook of Herbs and Spices (Second Edition)**. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. [s.l.] Woodhead Publishing, 2012. p. 499–525.

STEFANAKI, A.; VAN ANDEL, T. Chapter 3 - Mediterranean aromatic herbs and their culinary use. Em: GALANAKIS, C. M. (Ed.). **Aromatic Herbs in Food**. [s.l.] Academic Press, 2021. p. 93–121.

SUNDAR, S. K.; PARIKH, J. K. Advances and trends in encapsulation of essential oils. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 635, p. 122668, 25 mar. 2023.

TIMILSENA, Y. P. et al. Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 1276–1286, 2019.

VIACAVA, G. E. et al. Effect of free and microencapsulated thyme essential oil on quality attributes of minimally processed lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 145, p. 125–133, 1 nov. 2018.

VIANNA, T. C. et al. Essential oils as additives in active starch-based food packaging films: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 182, p. 1803–1819, jul. 2021.

WHO. **Food safety**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>>. Acesso em: 28 mar. 2024.

YANG, Z. et al. Ultrasonication induced nano-emulsification of thyme essential oil: Optimization and antibacterial mechanism against *Escherichia coli*. **Food Control**, v. 133, p. 108609, 1 mar. 2022.

ZHANG, W. et al. Encapsulation and delivery systems of cinnamon essential oil for food preservation applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 318, p. 102965, 1 ago. 2023.

CAPÍTULO III: EFFECT OF MICROENCAPSULATED THYME (*Thymus vulgaris*) ESSENTIAL OIL ON THE ANTIMICROBIAL AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF STARCH FOOD PACKAGING

Publicado no *International Journal of Food Science & Technology*: 07 de março de 2024. doi:10.1111/ijfs.17087

Maria Clara Guimarães ^{a*}, Luís Marangoni Junior ^b, Carlos Eduardo de Souza
Teodoro^c, Ana Silvia Prata ^d, Nathalia Ramos de Melo ^{a,c}

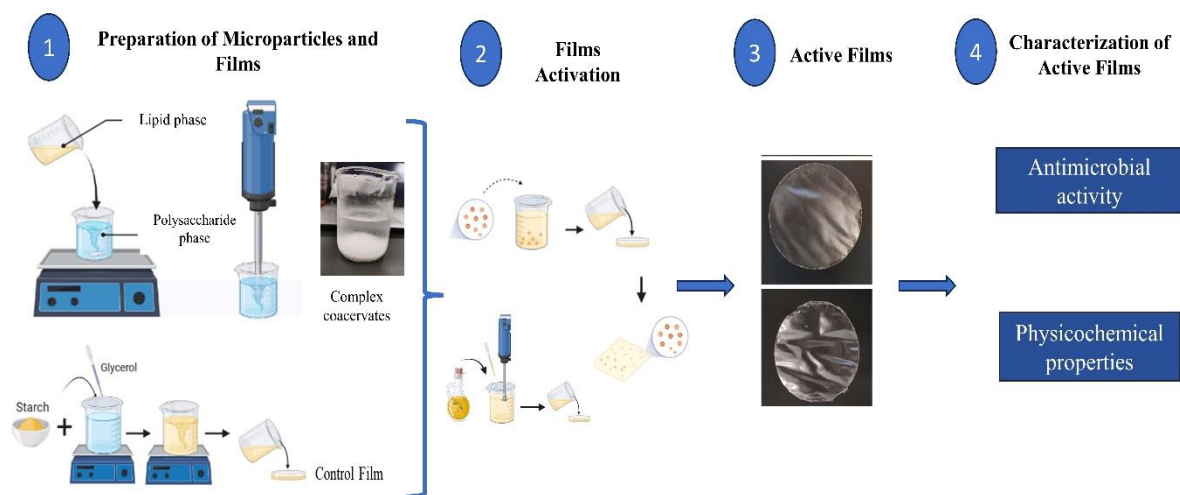
^a Graduate Program in Food Science and Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, Brazil

^b Packaging Technology Center, Institute of Food Technology, Campinas, São Paulo, Brazil.

^c Department of Agribusiness Engineering, Federal Fluminense University, Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brazil

^d Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), Campinas, São Paulo, Brazil

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

This research endeavored to explore the potential application of thyme essential oil (TEO) in the production of cassava starch (CS) films for active packaging. The study incorporated TEO both in its unencapsulated form and encapsulated through complex coacervation into the cassava starch film. The antimicrobial properties of the resulting films were assessed. The control films and those exhibiting antimicrobial activity were subjected to extensive physicochemical characterization, including measurements of thickness, mechanical properties, visual analysis using atomic force microscopy (AFM), color, luminosity, opacity, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), moisture content, solubility, and vapor transmission. The outcomes indicated that the presence of TEO, whether in its unencapsulated or encapsulated form, significantly affected the roughness of the CS films, reducing their solubility and enhancing their hydrophobicity compared to the control. It was also observed that unencapsulated TEO negatively impacted the films' integrity, whereas encapsulated TEO displayed a synergistic effect with CS films, improving their barrier properties and suggesting their potential use in food packaging applications.

Keywords: Biopolymers; Food Safety; Macromolecules

1. INTRODUCTION

The search for innovative solutions in the field of food packaging has grown in response to environmental concerns and the demand for more sustainable alternatives (SULTAN et al., 2023). Currently, the prevalence of disposable materials derived from petroleum in food packaging raises questions about their environmental impact and the need to explore more eco-friendly options. In this context, the use of natural polymers, such as starch, has been explored as a promising alternative, offering properties of barrier and biodegradability (KUREK et al., 2021).

However, despite its benefits, starch has limitations in its resistance to steam due to its hydrophilic nature, which restricts its application in the food industry (KUMARI; PAKSHIRAJAN; PUGAZHENTHI, 2022). To overcome these limitations, the incorporation of EOs in the polymer matrix, particularly thyme essential oil (*Thymus vulgaris*), emerges as an innovative approach. Thyme not only confers antimicrobial properties but also possesses notable antioxidant and flavor-enhancing benefits (GONÇALVES et al., 2017a; MARTURANO et al., 2019; ROBLEDO et al., 2018; ZHU et al., 2018).

Previous studies show that microencapsulation is a technique that aims to improve the effectiveness and stability of essential oils, as well as provide controlled release over time (BARBOSA et al., 2022; FERNANDES et al., 2022). The encapsulation of EO has shown to reduce the amount of oil required for antimicrobial and/or antioxidant activities (ZANETTI et al., 2018) and unnecessary effects of plasticization (JARAMILLO et al., 2016). However, only a few studies have investigated the influence of the concentration of these microparticles on the antimicrobial and physical properties of natural films. Another point worth noting is the limited number of studies that have compared these properties with those of free oils.

This study aims to investigate the effects of incorporating different concentrations of TEO microparticles in starch films and to examine the changes induced in antimicrobial properties and packaging material properties compared to the use of free oil in these films. By investigating the impact of microparticle concentration and this innovative strategy on antimicrobial and physical-chemical properties of packaging, we seek to contribute to the development of more efficient and sustainable solutions in the context of food packaging. This study thus aims to provide valuable insights for the development of more effective and ecologically responsible food packaging.

2. MATERIALS AND METHODS

Cassava starch (AM10, 22 % amylose) was supplied by Horizonte Amidos (Marechal Cândido Rondon, PR, Brazil), bovine skin type B gelatin (244 Bloom, LF 21502/04, Gelita América do Sul, SP, Brazil), gum Arabic (IRX49345, Colloides Naturels Brasil, MW = 300,000 g/mol, SP, Brazil), Thyme essential oil (Petit Marie, Itaquaquecetuba, SP, Brazil,) with 53 % thymol (GONÇALVES et al., 2017b). Culture media were Mueller-Hinton agar (Kasvi, Italy), Brain Heart Infusion (BHI) (Himedia, India), and Dextrose Potato Agar (BDA) (Ion Cult, India).

2.1 Preparation of microparticles by complex coacervation

Microparticles are prepared via complex coacervation (GONÇALVES et al., 2017b). A gelatin solution at 2.5 % m/v was maintained at 50 °C and homogenized with 2.5 % m/v TEO using an Ultra Turrax T-18 (IKA Words, USA) at 14.000 rpm. The same volume of gum Arabic solution was maintained at 40 °C and the gelatin-gum Arabic dispersion (GE/GA) pH was adjusted to 4.0. The gelatin-gum Arabic system was kept under magnetic stirring throughout the particle formation process and then cooled to 10 °C using an ice bath. The solution was then left to stand at 10 °C for 16 h.

The loading of essential oil in the microparticles (Eq. 1) was determined after extraction by maceration in ethyl alcohol and reading using a spectrophotometer at 280 nm (T60 UV-Vis; PG Instruments, UK). The analytical curve used was prepared with thyme oil in 95 % ethyl alcohol. ($y = 5.10^{-4}x + 0.0824$; $R^2 = 0.9982$).

Encapsulation efficiency (EE) was determined by assessing the extracted oil mass from the particles in relation to the theoretically inserted oil during the production process (Eq. 2).

$$\text{Particle charge} = \left(\frac{M_2}{\text{mass of dry particles}} \right) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$EE(\%) = \left(\frac{M_2}{M_1} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Where:

M_1 = initial mass of oil used for encapsulation

M_2 = final mass of oil present in the ethanolic solution, after extraction of the microcapsules.

2.2 Microparticle morphology

The mean particle sizes were determined using a laser light scattering method (Mastersizer M2000, Malvern Mastersizer., UK). with a sample suspension unit and deionized water as the suspension medium for the microparticles. The morphological characteristics of the wet microcapsules were examined using optical microscopy. (5-Zeiss Axioscope Optical Microscope, Germany) at magnifications of 10x and 40x.

2.3 Film formation

The films were produced by *casting*, according to the method described by (Motta et al. (2020), with modification. A dispersion of 4 % (v/v) of starch in distilled water plus glycerol (30 % w/v) was prepared. The dispersion was maintained under heating at $75^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ and magnetic agitation (C-MAG-HS7, Ika, Campinas, Brazil) for 30 min. Then, the solution was cooled to room temperature ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) and then 50 g was added to acrylic plates ($\varnothing = 14\text{ cm}$) dried in a forced oven (Nova Ética, Brazil) ($35 \pm 2^{\circ}\text{C}$) for about 24 hours. The films were stored at $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and $50 \pm 10\%$ RH.

2.4 Film activation

After solution was cooled to room temperature ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$), the films were activated according to the concentration of added coacervates (Table 1). The moisture content of the coacervates (86 %) was considered the final volume of the filmogenic solution. The films were stored at $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and $50 \pm 10\%$ RH.

Table 1 Formulation of cassava starch films containing thyme essential oil directly and microencapsulated.

Treatments	% of particles (m/v)	%Essential oil (m/v)
CT	0	0
FC1	1	0
FC2.5	2,5	0
FC5	5	0
FC7.5	7,5	0
FC10	10	0
FO5	0	5
FO10	0	10

CT: Control film; FC1: Film with 1% coacervates; FC2.5: Film with 2.5% coacervates; FC5: Film with 5% coacervates; FC7.5: Film with 7.5% coacervates; FC10: Film with 10% coacervates; FO5: Film with oil free proportional to 5% of coacervates; FO10: Film with oil free proportional to 10% of coacervates.

2.5 Characterization of the active film

2.5.1 Antimicrobial activity

Antimicrobial analyses were performed using the agar diffusion method (ASTM-E2149, 2020), with modifications. Fragments of 2×2 cm of the films were arranged, and antimicrobial activity was verified by observing of inhibition halos and/or a reduction in microbial density.

For the fungus *Penicillium* sp., a fungal suspension containing 1×10^8 spores/mL (Neubauer chamber) was applied to the BDA culture. As for the bacteria *S. aureus* ATCC6538 and *E. coli* ATCC11229 (0.5 on the McFarland scale) was used on the agar Mueller-Hinton.

Only films that showed antimicrobial activity were used for physicochemical characterization.

2.5.2 Mechanical properties and thickness

Sample thickness was assessed using a digital micrometer (Mitutoyo Co., Kawasaki-Shi, Japan) with a precision of 0.1 μ m. The reported thickness values represent the average of five samples, with measurements conducted at five distinct points.

The mechanical properties were determined according to (ASTM-D882 (2018), using a universal testing machine (Instron 5966-E2, Norwood, Massachusetts, USA). Each film sample was analyzed five times.

2.5.3 Moisture content, solubility and water vapor transmission rate (WVTR)

The moisture content and solubility of the films were cut into $2 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$ squares and evaluated using gravimetric analysis, according to (MOTTA et al., 2020).

The water vapor transmission rate (WVTR) of all film samples was determined using the gravimetric method (ASTM-E96-00, 2017).

2.5.4 Visual Analysis and Microscopy of Atomic Force

Atomic force microscopy (AFM) was conducted according to the methodology outlined by Rodrigues et al. (2020), with modifications. A contact force of 1.8 N/m, a scanning speed of 0.7 Hz, and a single tip (TAP 190AL-G, Budget Sensors Company, Bulgaria) with a resonance frequency of 164 kHz were employed. The imaging area was 20 μm^2 . The average roughness was determined using the EasyScan2 Nanosurf software (Liestal, Switzerland).

2.5.5 Color, Luminosity and Opacity

The color of the materials was evaluated with the aid of a Minolta CM-5-ID colorimeter using the luminosity (L^*) and chromas (a^* , b^*) parameters, known as CIELAB, with D65 (illuminant) and 10° (angle of observation).

Material opacity was evaluated using the standard test method for the transparency of plastic films (ASTM-E1252-98, 2021).

2.5.6 Fourier-transform infrared (FTIR/ATR) spectrophotometry.

FTIR analysis was conducted using a Spectrum 100 spectrometer (PerkinElmer, Waltham, MA, USA). The samples were examined in the attenuated total reflectance (ATR), in transmittance. They cover the spectral range of 4000-650 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} per scan.

2.6 Statistical analysis

Statistical analysis was obtained by calculating the average and standard deviation (SD) from multiple independent measurements ($n \geq 3$). RStudio® software was used for data analysis, and one-way ANOVA followed by Tukey's test was conducted to determine the differences between groups, with a significance level of $p < 0.05$.

3. RESULTS AND DISCUSSIONS

3.1 Particle characterization

The morphology, encapsulation efficiency (EE), size, and amount of TEO charged within the particles were used to evaluate the effectiveness of the colloids formed. The particles presented an average size of 12 μm (Fig. S1), an EE of 89 % and load 0.29 g of

oil/g of dry particles formed. A colloidal solution of the polysaccharide-protein complex was obtained through complex coacervation, allowing the encapsulation of TEO.

It was verified that oil was encapsulated inside the spherical particles (Fig. S2). Complexation between gelatin and gum Arabic produces particles with multinuclear internal structures. The absence of clusters was also observed.

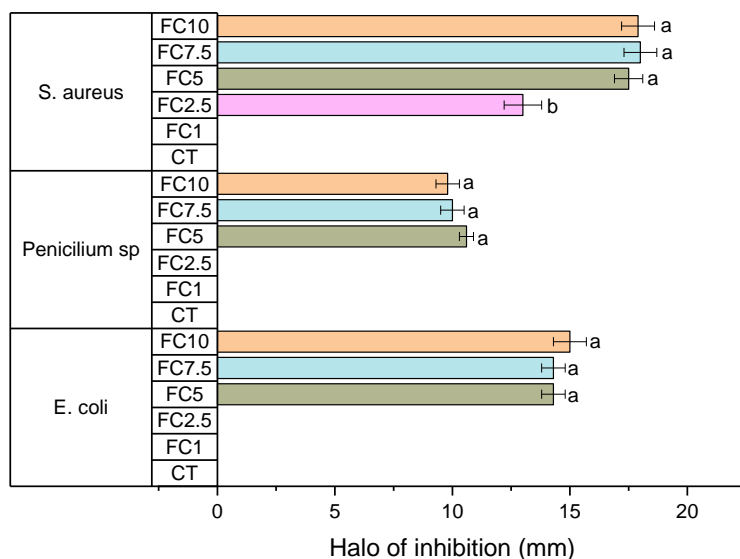
Similar morphologies have been reported by other authors, who microencapsulated TEO using the complex coacervation technique with gelatin-gum arabic as the wall material (ALMEIDA et al., 2023; CHAIB et al., 2021). When comparing the microencapsulation of TEO by different polymers, Gonçalves et al. (2018) obtained a better efficiency (89 %) using the gelatin/gum Arabic complex compared to the gelatin/chitosan complex and the gum Arabic/chitosan complex (67 % and 53 %, respectively).

3.2 Characterization of the active film

3.2.1 Antimicrobial activity

The antimicrobial activities of starch films with different concentrations of microparticles are shown in Fig. 1A. The control film (CT) and the film with the lowest particle concentration (FC1) did not exhibit antimicrobial activity against any of the tested microorganisms. With 2.5 % particles, the film showed inhibition only against *S. aureus*, whereas treatments with equal or greater than 5 % particles demonstrated antimicrobial activities against all tested microorganisms, with no significant difference ($p < 0.05$) among them. Therefore, it can be inferred that the antimicrobial activity of the films is related to the concentration of microparticles present, but a concentration greater than 5 % does not interfere with antimicrobial action.

A



B

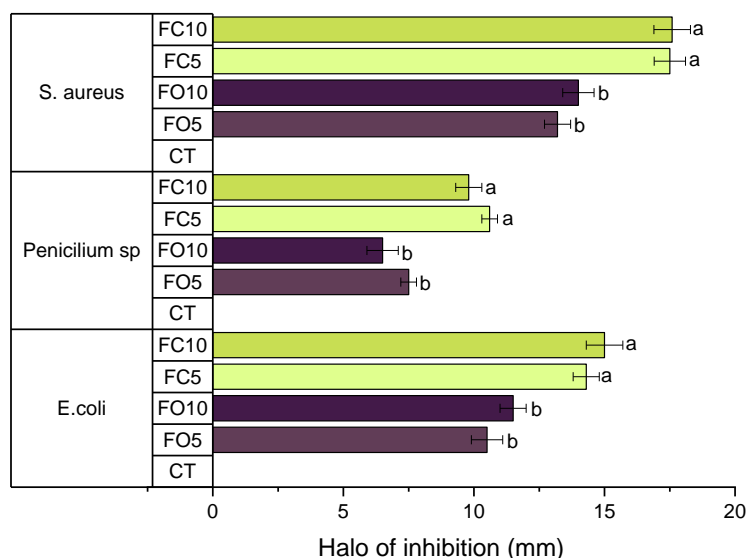


Fig. 1 Antimicrobial activity of the active films.

Where (A) CT: Control film; FC1: Film with 1% coacervates; FC2.5: Film with 2.5% coacervates; FC5: Film with 5% coacervates; FC7.5: Film with 7.5% coacervates; FC10: Film with 10% coacervates; (B) FO5: Film with oil free proportional to 5% of coacervates; FO10: Film with oil free proportional to 10% of coacervates; The same letters in the same column do not differ from each other according to Tukey's test at a significance level of 5%.

He et al., (2022) investigated the antibacterial mechanism of thyme essential oil nanoemulsions (TEONs) against *E. coli* O157:H7 and *S. aureus*. They observed membrane disintegration and cytoplasmic inclusion leakage, leading to membrane dysfunction and bacterial death owing to altered fatty acid composition and reduced fluidity.

The structure of microorganisms affects the efficacy of essential oils. Gram-positive bacteria are more vulnerable than gram-negative bacteria because the peptidoglycan membrane of the latter hinders oil penetration (RATHOD et al., 2021).

Certain essential oils may disrupt the bacterial plasma membrane lipids, causing intracellular component leakage (HE et al., 2022; ZHANG et al., 2023b) and inducing permeabilization and depolarization (RATHOD et al., 2021), suggesting another mechanism of action. In fungi, the main mechanism involves damage to the cell wall and the leakage of cytoplasmic contents (CHAVAN; TUPE, 2014).

In agreement with the findings of the present study, Zhang et al. (2023) that gram-positive bacteria (*S. aureus* and *L. plantarum*) were more susceptible to the antimicrobial action of microparticles containing cinnamon, peppermint, and lemon essential oils than gram-negative bacteria (*E. coli* and *Salmonella*). The authors observed that microparticles caused alterations in bacterial morphology, leakage of nucleic acids and proteins, and disruption of the cell membrane, confirming that essential oils have multiple modes of action.

The primary constituents of TEO are thymol, p-cymene, and its isomer carvacrol (SILVA et al., 2021), which, because of their phenolic nature, demonstrate extensive antimicrobial activity (CARPENA et al., 2021; VIANNA et al., 2021). In the TEO, these elements constituted 83 % of the total composition (GONÇALVES et al., 2017a), supporting its broad antimicrobial spectrum.

The study did not identify the specific components responsible for the antimicrobial activity; however, as demonstrated here, the inhibitory response only occurred after the addition of TEO microparticles, suggesting that it is responsible for the antimicrobial activity.

No notable antimicrobial differences were observed with 5 % coacervate ($p < 0.05$). Therefore, only films FC5 and FC10 were selected for additional characterization, along with free oil films (in concentrations proportional to the treatments).

The antimicrobial activities of films FO5 and FO10 were assessed for comparison with treatments FC5 and FC10, and the results are shown in Fig. 1B.

The free oil films showed significantly lower antimicrobial activity than films containing coacervates ($p < 0.05$). Using the load of the particles, the corresponding oil mass in the films containing 5 and 10 % coacervates was 1/5 of the value of the free oil used, corresponding to 1 and 2 g, respectively. This result suggested that the incorporation

of TEO microparticles improved the effectiveness of the oil against the microorganisms tested.

TEO microparticles have been reported to exhibit significant antimicrobial activity. Almeida et al. (2023) investigated the antimicrobial action of free and complex coacervation-encapsulated essential oils from oregano, thyme, cloves, cinnamon, and black pepper against foodborne pathogens (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, and *S. Typhimurium*). Encapsulation resulted in lower minimum inhibitory concentration (MIC) values for essential oils.

Gonçalves et al. (2017) evaluated the in vitro antimicrobial activity of coacervated TEO microparticles compared with that of free oil and applied them to a cake sample. The authors found that the encapsulated oil had lower MIC values (50 % lower) than the free oil, likely because of the protective microenvironment provided by the particle wall. This behavior was associated with the polynucleated structure of the particles, which promoted sustained release and could explain the lower MIC of thyme essential oil. These results support the findings of our study, in which it was observed (Fig. 1B) that the antimicrobial activity of films with microparticles was superior to that of free oil.

Results like these have been consistently confirmed in the literature (Li et al., 2022; Wang et al., 2021). Caetano et al. (2018) compared the antimicrobial activities of free and encapsulated oregano EO in soy protein films and found improved preservation of thymol and carvacrol resulted in reduced volatilization, which was related to the increased efficacy of films with microparticles.

TEO compounds have low molecular weights and high water-air partition coefficients, making them highly mobile and volatile (GONÇALVES et al., 2017b), which could explain the smaller inhibition zones observed in this study. Encapsulation reduces the partial loss of these compounds during film preparation and creates a compartment that reduces the volatility (MUKURUMBIRA et al., 2022).

3.2.2 Mechanical Properties and Thickness

Table 2 lists the thicknesses of the starch-based films directly incorporated with TEO and microencapsulated films. The results showed that the addition of either microparticles or free oil significantly increased ($p < 0.05$) the thickness of the films compared to the that of control.

Table 2 Effect of the incorporation of thyme oil, directly and microencapsulated, on the mechanical properties, the moisture content, solubility, WVTR and thickness of cassava starch-based films.

Treatments	Thickness (μm)	Elongation at rupture (%)	Tensile strength (MPa)	Modulus of elasticity (MPa)	Moisture content (%)	Solubility (%)	WVTR (g water $\text{m}^{-2} \text{day}^{-1}$)
CT	72.20 \pm 2.48 ^b	1.37 \pm 0.25 ^{ab}	20.60 \pm 1.72 ^a	1607.96 \pm 29.92 ^a	18 \pm 0.01 ^a	54.25 \pm 1.05 ^a	774.96 \pm 17.79 ^a
FC5	104.66 \pm 8.93 ^a	1.73 \pm 0.20 ^{ab}	19.38 \pm 4.21 ^a	1598.54 \pm 151.60 ^a	17 \pm 0.01 ^b	47.57 \pm 0.88 ^b	496.95 \pm 14.60 ^c
FC10	114.28 \pm 16.37 ^a	1.25 \pm 0.15 ^b	17.05 \pm 2.09 ^a	1487.36 \pm 55.29 ^a	16 \pm 0.01 ^c	40.35 \pm 0.15 ^c	393.18 \pm 65.44 ^d
FO5	125.58 \pm 11.49 ^a	2.79 \pm 1.25 ^a	1.87 \pm 0.71 ^b	314.87 \pm 79.69 ^b	12 \pm 0.03 ^d	27.68 \pm 0.96 ^d	632.53 \pm 44.21 ^b
FO10	110.76 \pm 9.39 ^a	2.47 \pm 1.10 ^{ab}	1.62 \pm 0.54 ^b	276.81 \pm 49.69 ^b	13 \pm 0.03 ^c	30.52 \pm 1.10 ^c	ND

Equal letters, in the same column, do not differ from each other by Tukey's test at a significance level of 5%. CT = Control film; FC5 = Film with 5% of coacervates; FC10 = ilm with 10% of coacervates; FO5 = Film with 5% TEO free proportional to 5% coacervates; FO10 = Film with 10% TEO free proportional to 10% coacervates.

Thymol is linked to amylose (LIANG; GAO, 2023) and has a plasticizing effect (DIAS-MARTINS et al., 2019). A significant increase in film thickness may be related to the role of plasticizers in disrupting and restructuring the intermolecular networks of the polymer chain, creating more free volume that leads to thicker films (NORDIN et al., 2020).

Similar behaviors have been reported for CS films incorporated with different additives, such as N-lauryl-l-arginine ethyl ester monochlorohydrate (LAE) (MOTTA et al., 2020) and essential oils (VIANNA et al., 2021; WANG et al., 2019; ZUBAIR et al., 2022) and microparticles (CAMPOS-REQUENA et al., 2017; CRIZEL et al., 2018; MEIRA et al., 2017; SAPPER; CHIRALT, 2018).

Mechanical properties play a key role in the packaging performance along the production chain, becoming one of the most important characteristics of these materials (BARBOSA et al., 2022). High values of elongation at rupture and low tensile strength result in low elasticity, indicating lower stiffness of the material (MOTTA et al., 2020).

The films with microparticles were found to have superior thicknesses compared to the control, but this did not significantly impact the tensile strength or elasticity. However, the direct incorporation of TEO reduced the strength and elasticity of the films compared with that of the control. The addition of free OE resulted in films that were less resistant and more flexible, suggesting an interaction between TEO compounds and amylose chains, increasing the molecular mobility and flexibility of the films and leading to a plasticizing effect.

The presence of oil weakened the intermolecular forces in the polymer chains, thereby reducing the resistance of the film matrix. Rodrigues et al. (2020) observed that incorporating free or encapsulated copaiba oil decreased the tensile strength and elongation of CS films owing to structural modifications resulting in a less continuous matrix. Similarly, Song et al. (2018) attributed the reduced tensile strength of wheat and corn starch-based films to lemon essential oil incorporation, which affected the polymer matrix.

The thyme oil microparticles showed no difference ($p > 0.05$) in the tensile strength of the control film, which may indicate good interaction between the microparticles and starch. Previous studies have shown that the incorporation of orange peel oil nanoparticles alters the properties of starch films, resulting in an increase in tensile strength and elongation compared with control films composed only of starch (WANG et al., 2019).

3.2.3 Moisture content, solubility and WVTR

High susceptibility to moisture is one of the main obstacles to the use of polysaccharides in films for food packaging because of the strong interaction between water molecules and the starch structure (BERTUZZI et al., 2007).

As shown in Table 2, there was a significant decrease ($p < 0.05$) in the moisture content of the films with microparticles compared with that of the control film, and even more so in the films with added oil. The small reduction in the films with particles is due to the amount of water in the coacervated particles (85 %). TEO causes a hydrophobicity effect that affects water retention in the film; however, the increase in oil concentration from 5 to 10 % did not alter the water retention, which was approximately 12 %.

Rodrigues et al. (2020) observed that the moisture content of the starch-based film decreased from 21.57 % to 19.65 % when copaiba essential oil was incorporated directly and to 13.93 % when coacervated microparticles were used.

Thyme oil, when added directly and when microencapsulated, decreased the solubility of the films, with the effect being more pronounced in films with free oil than in films with microcapsules. Thymol, a component of thyme oil, can form complexes with amylose, a type of starch, resulting in less-soluble structures (GAO et al., 2021).

In addition, the interaction between the oil components and the hydroxyl groups of the polymer matrix reduced the hydrophilic character of the films. This results in a

decrease in the availability of hydroxyl groups and, consequently, a greater resistance of the films to water (ZHOU et al., 2021).

The WVTR results showed that films with freely added oil had values lower than that of the control by approximately 18 %. Microparticles resulted in a 35.8 %-49.16 % reduction in relation to the control for FC5 and FC10, respectively. The lower WVTR values for films with microparticles can be attributed to the increased length of the diffusion path for water vapor owing to the distribution of microparticles in the starch polymeric matrix (VIANNA et al., 2021).

As highlighted by Zanetti et al. (2018), the incorporation of microparticles strengthens the film, reducing the spaces at the polymer/microparticle interface, and facilitating solute diffusion in the film. This effect was observed in the microscopy images (Fig. 2) and mechanical properties of the films (Table 1), indicating that the addition of microparticles promoted reinforcement in the film.

It was impossible to quantify the WVTR of the treatment FO10 because it broke before the first hour of the analysis. According to Bertuzzi et al. (2007), as the thickness of the starch-based film increases, there is greater resistance to mass transfer through it; consequently, the partial equilibrium pressure of water vapor on the inner surface of the film increases. The thickness results discussed in item 3.2.2 corroborates those found in the analysis.

3.2.3 Visual Analysis and Microscopy of Atomic Force

Figure 2 shows an atomic force microscopy (A) and visual analysis (B) of CS films incorporated with directly and microencapsulated thyme oil. Fig. 2B shows that the control film has a more irregular surface than the other samples, with an area of average roughness of 403.1 ± 15.87^a nm, differing significantly. The films incorporated with TEO directly showed a lower roughness (263.92 ± 15.25^d nm; $69.164, \pm 15.25^e$ nm, respectively), which may be related to the distribution of oil on the surface of the film.

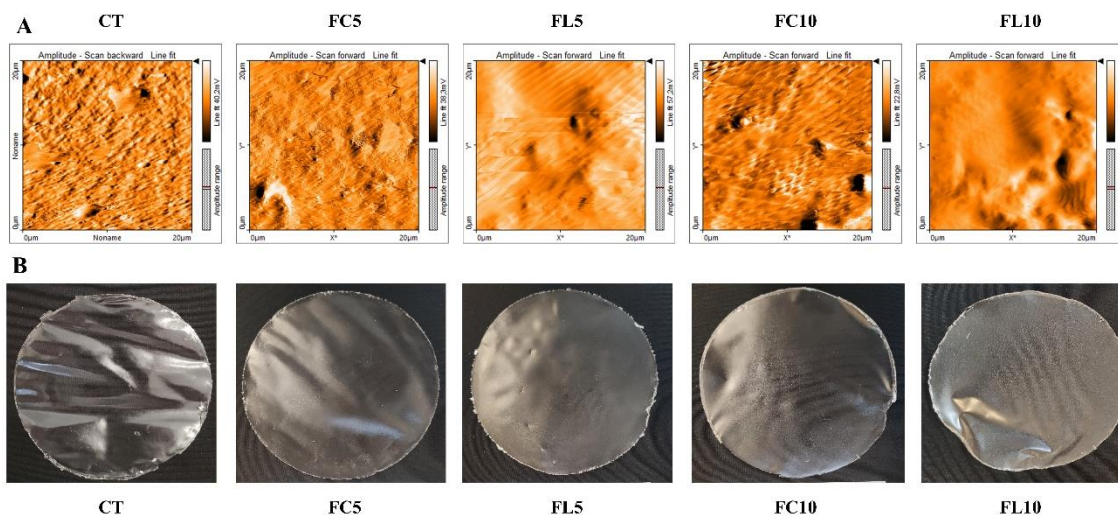


Fig. 2 Atomic force microscopy images of films (A) and Starch films (A).

The incorporation of the TEO microparticles showed more evident irregularities, with an average roughness of 350.84 ± 25.29^b pm; $300.67^c \pm 15.32$ pm, respectively compared to the films with directly incorporated TEO. However, the films with microparticles exhibited a lower surface roughness than the control films. The reduction in the roughness of the free oil films can be directly attributed to the liquid state of the oil, which filled the irregularities of the polymer matrix during the drying process and may have had a plasticizing effect, resulting in smoother and more regular surfaces (RODRIGUES et al., 2020).

The presence of gelatin and gum Arabic as coating walls of the coacervates may indicate better integration between the particles and the film, resulting in a surface with lower roughness than that of the control film. This uniformity of the surface may have contributed to the improvement of the physical and functional properties of the packaging.

A similar result was observed by Rodrigues et al. (2020), in which films containing copaiba oil, both in direct and microencapsulated forms, showed lower roughness compared to the control group. This indicates that the incorporation of copaiba oil contributed to achieving smoother surfaces in the packaging films. These results are consistent with the findings of the present study, reinforcing the tendency to reduce the roughness of the film with the addition of oil or microparticles.

3.2.4 Color, Luminosity and Opacity

The color parameters of the prepared films are listed in Table 3. The luminosity values decreased significantly ($p<0.05$) with the incorporation of the free oil microparticles. The addition of free oil microparticles significantly increased ($p<0.05$) b^* (yellow) of the films; however, this coloration was not visible (Fig. 2). The changes in the color of the films can be attributed to the yellow color (carvacrol present in the TEO and gelatin present in the wall material of the coacervate) and the concentration of thyme oil or gelatin contained in the microparticles.

Table 3 Effect of the incorporation of thyme oil, directly and microencapsulated, on the color and opacity properties of cassava starch-based films.

Treatments	L*	a*	b*	Opacity (A ₆₀₀ /μm)
CT	98.05±0.01 ^a	0.07±0.01 ^a	0.69±0.01 ^e	1.21±0.01 ^a
FC5	97.92±0.02 ^b	0.01±0.01 ^a	0.85±0.01 ^d	0.81±0.01 ^b
FC10	96.88±0.04 ^c	0.29±0.01 ^a	1.55±0.01 ^a	0.58±0.04 ^c
FO5	96.85±0.01 ^c	0.04±0. ^a	1.04±0.01 ^c	0.62±0.01 ^c
FO10	96.70±0.02 ^d	0.31±0.0 ^{ao}	1.30±0.01 ^b	0.32±0.06 ^d

Equal letters, in the same column, do not differ from each other by Tukey's test at a significance level of 5%. CT = Control film; FC5 = Film with 5% of coacervates; FC10 = Film with 10% of coacervates; FO5 = Film with 5% TEO free proportional to 5% coacervates; FO10 = Film with 10% TEO free proportional to 10% coacervates.

The color results are compatible with the visual analysis of the film, as discussed in Section 3.2.4. It is possible to observe that the films incorporated with free TEO or microparticles visually presented a more mature coloration, giving low luminosity to greater opacity (Fig. 2).

Similar results have been reported for starch films incorporated with LAE (MOTTA et al., 2020), cinnamon essential oil (ZHOU et al., 2021) and microencapsulated copaiba oil (RODRIGUES et al., 2020).

3.2.5 Fourier Transform Infrared spectrophotometry (FT-IR)

The FT-IR spectra (FT-IR) of the CS films directly incorporated with microencapsulated TEO and TEO are shown in Fig. 3.

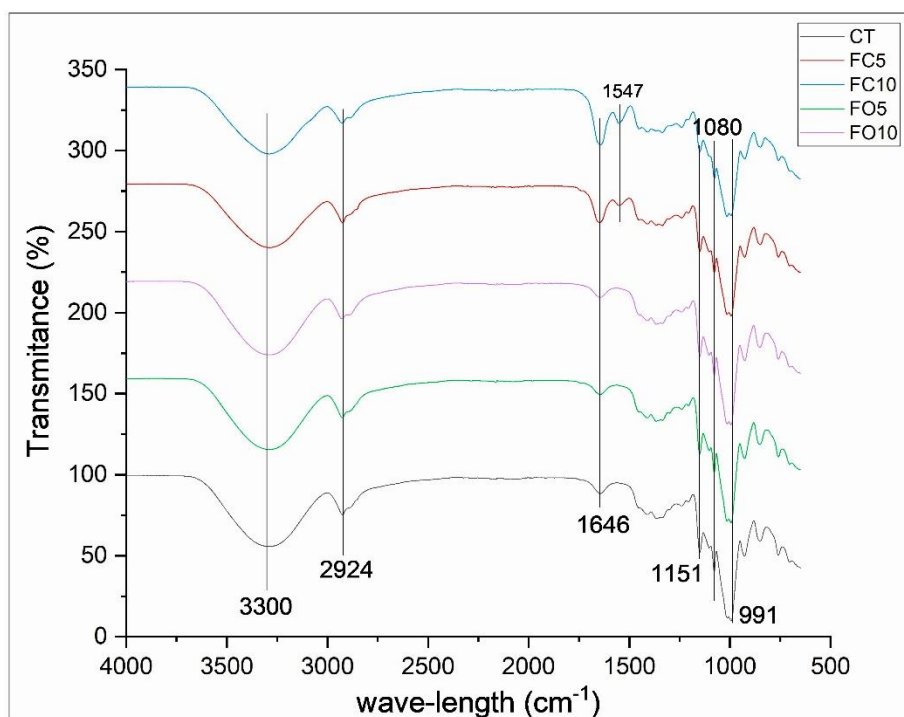


Fig. 3 Infrared spectra of starch films incorporated with free and microencapsulated thyme oil.

The observed peaks are characteristic of starch-based films. The spectra show absorption bands at 3300 cm^{-1} , 2924 cm^{-1} , 1645 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} , and 991 cm^{-1} , which correspond to the hydroxyl group ($-\text{OH}$), stretching of the $\text{C}-\text{H}$ group, and CH_2 deformations, respectively. All of these groups are present in the structures of starch and glycerol, which are used in the formation of films (MOTTA et al., 2020).

A small absorption peak at 1547 cm^{-1} was observed only for the microparticle films (Fig. 3). According to Constantino and Garcia-Rojas (2022), this region is characteristic of the amino groups ($-\text{NH}_2$) found in gelatin films. In addition, according to the authors, amino groups can interact with carboxymethylcellulose (CMC) $-\text{COOH}$ groups through electrostatic attraction. Thus, the presence of a peak in this absorption region may indicate an interaction between gelatin and the starch film.

The infrared spectra of the starch films with TEO showed no differences with respect to the control film. This behavior can be attributed to a low oil concentration or the possible overlap of the peaks.

4. CONCLUSION

The incorporation of thyme essential oil directly or in microparticles promoted changes in the properties of CS films. Microencapsulation allows better incorporation of

EO in the polymer matrix compared to direct incorporation, resulting in increased antimicrobial activity, tensile strength, elongation at rupture, moisture content, and thickness reduction. For the control film, the incorporation of both forms of oil reduced roughness, solubility, moisture content, and WVTR.

The concentration of 5 % coacervates, in addition to making the films antimicrobial, proved its wide antimicrobial action, since it reduced the growth of all the microorganisms tested and was the one that presented better parameters than the control film.

By using biodegradable materials reinforced with microscale materials, it is possible to design suitable active packaging solutions to extend the shelf life and increase food quality.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no competing financial interests or personal relationships that could influence the work reported in this study.

Acknowledgment

We would like to thank the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the doctoral scholarship grant #141144/2020-3, the São Paulo Research Foundation (FAPESP) for the post-doctoral fellowship grant #2021/04043-2, and the project Process #2019/03812-2 EMU.

Ethical Guidelines

Ethics approval was not required for this research.

Data Availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

SUPPLEMENTARY FILES

Load and Encapsulation Efficiency equations.

Eq. S1

$$\text{Particle charge} = \left(\frac{M_2}{\text{mass of dry particles}} \right) \quad (\text{S1})$$

Eq.S2:

$$EE(\%) = \left(\frac{M_2}{M_1} \right) \times 100 \quad (\text{S2})$$

Where:

M_1 = initial mass of oil used for encapsulation

M_2 = final mass of oil present in the ethanolic solution, after extraction of the microcapsules.

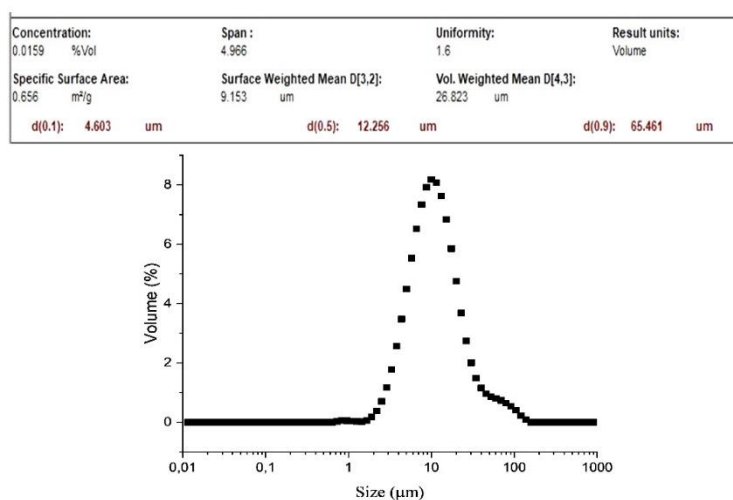


Fig. S 1 Size of particles

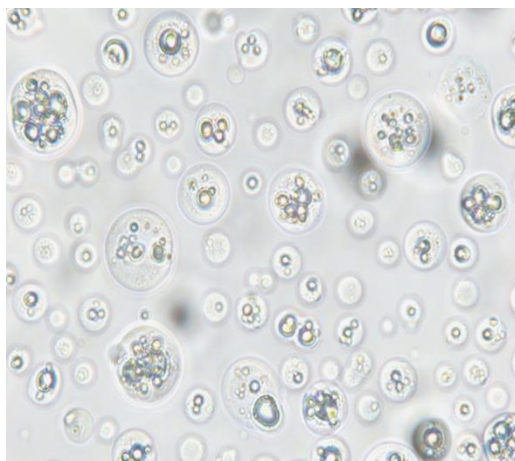


Fig. S 2 Microscopy of thyme coacervates with objective x40.

REFERENCES

- Almeida, J.M., Crippa, B.L., Martins Alencar de Souza, V.V., Perez Alonso, V.P., da Motta Santos Júnior, E., Siqueira Franco Picone, C., Prata, A.S., Cirone Silva, N.C., 2023. Antimicrobial action of Oregano, Thyme, Clove, Cinnamon and Black pepper essential oils free and encapsulated against foodborne pathogens. *Food Control* **144**, 109356. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109356>
- ASTM-D882, 2018. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. <https://doi.org/10.1520/D0882-18>
- ASTM-E96-00, 2017. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. <https://doi.org/10.1520/E0096-00>
- ASTM-E1252-98, 2021. Standard practice for general techniques for obtaining infrared spectra for qualitative analysis. <https://doi.org/10.1520/E1252-98R21>
- ASTM-E2149, 2020. Standard test method for determining the antimicrobial activity of antimicrobial agents under dynamic contact conditions. <https://doi.org/10.1520/E2149-20>
- Barbosa, A.E.G., Constantino, A.B.T., Bastos, L.P.H., Garcia-Rojas, E.E., 2022. Encapsulation of sacha inchi oil in complex coacervates formed by carboxymethylcellulose and lactoferrin for controlled release of β -carotene. *Food Hydrocolloids for Health* **2**, 100047. <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2021.100047>
- Bertuzzi, M.A., Castro Vidaurre, E.F., Armada, M., Gottifredi, J.C., 2007. Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering* **80**, 972–978. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.016>
- Caetano, K. dos S., Almeida Lopes, N., Haas Costa, T.M., Brandelli, A., Rodrigues, E., Hickmann Flôres, S., Cladera-Olivera, F., 2018. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. *Food Packaging and Shelf Life* **16**, 138–147. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.006>
- Campos-Requena, V.H., Rivas, B.L., Pérez, M.A., Figueroa, C.R., Figueroa, N.E., Sanfuentes, E.A., 2017. Thermoplastic starch/clay nanocomposites loaded with essential oil constituents as packaging for strawberries – In vivo antimicrobial synergy over *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology* **129**, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.03.005>
- Carpena, M., Nuñez-Estevez, B., Soria-Lopez, A., Garcia-Oliveira, P., Prieto, M.A., 2021. Essential Oils and Their Application on Active Packaging Systems: A Review. *Resources* **10**, 7. <https://doi.org/10.3390/resources10010007>
- Chaib, S., Benali, N., Arhab, R., Sadraoui Ajmi, I., Bendaoued, H., Romdhane, M., 2021. Preparation of *Thymus vulgaris* Essential Oil Microcapsules by Complex Coacervation and Direct Emulsion: Synthesis, Characterization and Controlled Release Properties. *Arab J Sci Eng* **46**, 5429–5446. <https://doi.org/10.1007/s13369-020-05223-w>

- Chavan, P.S., Tupe, S.G., 2014. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. *Food Control* **46**, 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.007>
- Constantino, A.B.T., Garcia-Rojas, E.E., 2022. Microencapsulation of betanin by complex coacervation of carboxymethylcellulose and amaranth protein isolate for application in edible gelatin films. *Food Hydrocolloids* **133**, 107956. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107956>
- Crizel, T. de M., de Oliveira Rios, A., D. Alves, V., Bandarra, N., Moldão-Martins, M., Hickmann Flôres, S., 2018. Biodegradable Films Based on Gelatin and Papaya Peel Microparticles with Antioxidant Properties. *Food Bioprocess Technol* **11**, 536–550. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-2030-0>
- Dias-Martins, A.M., Cappato, L.P., da Costa Mattos, M., Rodrigues, F.N., Pacheco, S., Carvalho, C.W.P., 2019. Impacts of ohmic heating on decorticated and whole pearl millet grains compared to open-pan cooking. *Journal of Cereal Science* **85**, 120–129. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.11.007>
- Fernandes, B. C. N., Paulo, B. B., Guimarães, M. C., Sarantopoulos, C. I. de L., Melo, N. R., & Prata, A. S. 2022. Prospection of the use of encapsulation in food packaging. *Comprehensive Reviews* **21**, 2309-2334. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12933>
- Gao, Q., Bie, P., Tong, X., Zhang, B., Fu, X., Huang, Q., 2021. Complexation between High-Amylose Starch and Binary Aroma Compounds of Decanal and Thymol: Cooperativity or Competition? *J. Agric. Food Chem.* **69**, 11665–11675. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01585>
- Gonçalves, N.D., Grosso, C.R.F., Rabelo, R.S., Hubinger, M.D., Prata, A.S., 2018. Comparison of microparticles produced with combinations of gelatin, chitosan and gum Arabic. *Carbohydrate Polymers* **196**, 427–432. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.027>
- Gonçalves, N.D., Pena, F.D.L., Sartoratto, A., Derlamelina, C., Duarte, M.C.T., Antunes, A.E.C., Prata, A.S., 2017. Encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil used as a natural preservative in bakery product. *Food Research International* **96**, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.006>
- He, Q., Zhang, L., Yang, Z., Ding, T., Ye, X., Liu, D., Guo, M., 2022. Antibacterial mechanisms of thyme essential oil nanoemulsions against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus*: Alterations in membrane compositions and characteristics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **75**, 20. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102902>
- Jaramillo, C.M., Gutiérrez, T.J., Goyanes, S., Bernal, C., Famá, L., 2016. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers* **151**, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.025>
- Kumari, S.V.G., Pakshirajan, K., Pugazhenth, G., 2022. Recent advances and future prospects of cellulose, starch, chitosan, polylactic acid and polyhydroxyalkanoates for

sustainable food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules* **221**, 163–182. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.203>

Kurek, M., Benbettaieb, N., Ščetar, M., Chaudy, E., Elez-Garofulić, I., Repajić, M., Klepac, D., Valić, S., Debeaufort, F., Galić, K., 2021. Novel functional chitosan and pectin bio-based packaging films with encapsulated *Opuntia-ficus indica* waste. *Food Bioscience* **41**, 100980. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100980>

Li, S., Jiang, Yalan, Zhou, Y., Li, R., Jiang, Yufei, Alomgir Hossen, M., Dai, J., Qin, W., Liu, Y., 2022. Facile fabrication of sandwich-like anthocyanin/chitosan/lemongrass essential oil films via 3D printing for intelligent evaluation of pork freshness. *Food Chemistry* **370**, 131082. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131082>

Liang, Q., Gao, Q., 2023. Effect of amylose content on the preparation for carboxymethyl starch/pullulan electrospun nanofibers and their properties as encapsulants of thymol. *Food Hydrocolloids* **136**, 108250. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108250>

Marturano, V., Bizzarro, V., Ambrogi, V., Cutignano, A., Tommonaro, G., Abbamondi, G.R., Giamberini, M., Tylkowski, B., Carfagna, C., Cerruti, P., 2019. Light-Responsive Nanocapsule-Coated Polymer Films for Antimicrobial Active Packaging. *Polymers* **11**, 68. <https://doi.org/10.3390/polym11010068>

Meira, S.M.M., Zehetmeyer, G., Werner, J.O., Brandelli, A., 2017. A novel active packaging material based on starch-halloysite nanocomposites incorporating antimicrobial peptides. *Food Hydrocolloids* **63**, 561–570. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.013>

Motta, J.F.G., de Souza, A.R., Gonçalves, S.M., Madella, D.K.S.F., de Carvalho, C.W.P., Vitorazi, L., de Melo, N.R., 2020. Development of active films based on modified starches incorporating the antimicrobial agent lauroyl arginate (LAE) for the food industry. *Food Bioprocess Technol* **13**, 2082–2093. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02548-0>

Mukurumbira, A.R., Shellie, R.A., Keast, R., Palombo, E.A., Jadhav, S.R., 2022. Encapsulation of essential oils and their application in antimicrobial active packaging. *Food Control* **136**, 108883. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108883>

Nordin, N., Othman, S.H., Rashid, S.A., Basha, R.K., 2020. Effects of glycerol and thymol on physical, mechanical, and thermal properties of corn starch films. *Food Hydrocolloids* **106**, 105884. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105884>

Rathod, N.B., Kulawik, P., Ozogul, F., Regenstein, J.M., Ozogul, Y., 2021. Biological activity of plant-based carvacrol and thymol and their impact on human health and food quality. *Trends in Food Science & Technology* **116**, 733–748. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.023>

Robledo, N., Vera, P., López, L., Yazdani-Pedram, M., Tapia, C., Abugoch, L., 2018. Thymol nanoemulsions incorporated in quinoa protein/chitosan edible films; antifungal effect in cherry tomatoes. *Food Chemistry* **246**, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.032>

- Rodrigues, G. de M., Filgueiras, C.T., Garcia, V.A. dos S., Carvalho, R.A. de, Velasco, J.I., Fakhouri, F.M., 2020. Antimicrobial Activity and GC-MS Profile of Copaiba Oil for Incorporation into Xanthosoma mafaffa Schott Starch-Based Films. *Polymers* **12**, 2883. <https://doi.org/10.3390/polym12122883>
- Sapper, M., Chiralt, A., 2018. Starch-Based Coatings for Preservation of Fruits and Vegetables. *Coatings* **8**, 152. <https://doi.org/10.3390/coatings8050152>
- Silva, A.S., Tewari, D., Sureda, A., Suntar, I., Belwal, T., Battino, M., Nabavi, S.M., Nabavi, S.F., 2021. The evidence of health benefits and food applications of *Thymus vulgaris* L. *Trends in Food Science & Technology, Plant-Based Bioactive Compounds: Healthy Promoters And Protective Agents* **117**, 218–227. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.010>
- Song, A.Y., Choi, H.Y., Lee, E.S., Han, J., Min, S.C., 2018. Development of Anti-Insect Microencapsulated Polypropylene Films Using a Large Scale Film Coating System. *Journal of Food Science* **83**, 1011–1016. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14105>
- Sultan, M., Abdelhakim, A.A., Nassar, M., Hassan, Y.R., 2023. Active packaging of chitosan film modified with basil oil encapsulated in silica nanoparticles as an alternate for plastic packaging materials. *Food Bioscience* **51**, 102298. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102298>
- Vianna, T.C., Marinho, C.O., Marangoni Júnior, L., Ibrahim, S.A., Vieira, R.P., 2021. Essential oils as additives in active starch-based food packaging films: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* **182**, 1803–1819. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.170>
- Wang, H.-H., Li, M.-Y., Dong, Z.-Y., Zhang, T.-H., Yu, Q.-Y., 2021. Preparation and Characterization of Ginger Essential Oil Microcapsule Composite Films. *Foods* **10**, 2268. <https://doi.org/10.3390/foods10102268>
- Wang, Y., Zhang, R., Ahmed, S., Qin, W., Liu, Y., 2019. Preparation and Characterization of Corn Starch Bio-Active Edible Packaging Films Based on Zein Incorporated with Orange-Peel Oil. *Antioxidants* **8**, 391. <https://doi.org/10.3390/antiox8090391>
- Zanetti, M., Carniel, T.K., Dalcanton, F., dos Anjos, R.S., Gracher Riella, H., de Araújo, P.H.H., de Oliveira, D., Antônio Fiori, M., 2018. Use of encapsulated natural compounds as antimicrobial additives in food packaging: A brief review. *Trends in Food Science & Technology* **81**, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.003>
- Zhang, Y., Yang, S., Hardie, W.J., Li, X., Xiao, M., Huang, T., Xiong, T., Xie, M., 2023. Microcapsules of a cinnamon, peppermint, and lemon essential oil mix by spray drying: Preparation, characterization and antibacterial functions. *Food Hydrocolloids* **145**, 109103. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109103>
- Zhou, Y., Wu, X., Chen, J., He, J., 2021. Effects of cinnamon essential oil on the physical, mechanical, structural and thermal properties of cassava starch-based edible films. *International Journal of Biological Macromolecules* **184**, 574–583. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.067>

Zhu, J.-Y., Tang, C.-H., Yin, S.-W., Yang, X.-Q., 2018. Development and characterization of novel antimicrobial bilayer films based on Polylactic acid (PLA)/Pickering emulsions. *Carbohydrate Polymers* **181**, 727–735. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.085>

Zubair, M., Shahzad, S., Hussain, A., Pradhan, R.A., Arshad, M., Ullah, A., 2022. Current Trends in the Utilization of Essential Oils for Polysaccharide- and Protein-Derived Food Packaging Materials. *Polymers* **14**, 1146. <https://doi.org/10.3390/polym14061146>

CAPÍTULO IV: ESTUDO COMPARATIVO DAS PROPRIEDADES DE FILMES DE AMIDOS MODIFICADOS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO (*T.vulgaris*) LIVRE E ENCAPSULADO

RESUMO

Diante da crescente preocupação com a sustentabilidade e os impactos ambientais causados pelo uso de embalagens plásticas derivadas de fontes fósseis, este estudo teve como objetivo desenvolver alternativas sustentáveis e inovadoras utilizando como base os amidos de mandiocas modificados e o óleo essencial de tomilho (*T. vulgaris*) para produzir filmes ativos ecologicamente amigáveis. Foram investigados efeitos da incorporação de óleo essencial de tomilho – livre e encapsulado - nesses filmes para melhorar suas propriedades funcionais. Dessa forma foram realizadas análises de resistência mecânica, solubilidade, permeabilidade ao vapor d'água (TPVA), FTIR, propriedades térmicas, de cor além da atividade antioxidante e antimicrobiana. O estudo constatou que a adição de micropartículas de OET melhorou significativamente ($p<0,05$) a resistência mecânica e de barreira dos filmes, tornando-os mais resistentes e eficientes na proteção contra umidade quando comparados com filmes incorporados com OET livre. A modificação do amido resultou em filmes mais resistentes e com melhor estabilidade térmica quando comparado com amido nativo. Todavia, os filmes de amido eterificado, apresentaram maior solubilidade, podendo limitar sua durabilidade em certas aplicações. Os filmes modificados reforçados com micropartículas de OET apresentaram melhor estabilidade térmica e maiores atividade antimicrobiana contra *E.coli*, *S. aureus* e *Penicillium sp* e antioxidante quando comparadas com filmes incorporados com OET livre. O uso da microencapsulação aliado à modificação do amido sugere uma potencial alternativa para embalagens ativas sustentáveis para aplicação em alimentos.

Palavras-chaves: Alimentos; aditivos naturais; embalagem ativa; polímeros; sustentabilidade

ABSTRACT

Amid the growing concern about sustainability and the environmental impacts caused by the use of plastic packaging derived from fossil sources, this study aimed to develop sustainable and innovative alternatives using modified cassava starch and thyme essential oil (*T. vulgaris*) as a base to produce environmentally friendly active films. The effects of incorporating thyme essential oil - both free and encapsulated - into these films to improve their functional properties were investigated. Thus, analyses of mechanical resistance, solubility, water vapor permeability (WVP), FTIR, thermal properties, color, as well as antioxidant and antimicrobial activity were conducted. The study found that the addition of thyme essential oil microparticles significantly improved ($p < 0.05$) the mechanical and barrier properties of the films, making them more resistant and efficient in protecting against moisture compared to films incorporated with free thyme essential oil. Starch modification resulted in films that were more resistant and had better thermal stability compared to native starch. However, etherified starch films showed higher solubility, which could limit their durability in certain applications. The modified films reinforced with thyme essential oil microparticles exhibited better thermal stability and higher antimicrobial activity against *E.coli*, *S. aureus*, and *Penicillium* sp., as well as antioxidant activity compared to films incorporated with free thyme essential oil. The use of microencapsulation combined with starch modification suggests a potential alternative for sustainable active packaging for food applications.

Keywords: Active packaging; Food; natural additives; polymers; sustainability.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com dados do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (Pnuma), estima-se que são produzidos por ano cerca de 400 milhões de toneladas de plásticos no mundo e que somente 10% é reciclado (NATIONAL GEOGRAPHIC BRASIL, 2023). No Brasil, segundo o Estudo macroeconômico da embalagem e cadeia de consumo realizado pela Associação Brasileira de Embalagem (ABRE), em 2022, 33% das embalagens produzidas no país, foram plásticas e os setores de alimentos e bebidas são os que mais consomem embalagem (ABRE, 2023).

Diante desse cenário, o desenvolvimento de embalagens sustentáveis e que mantenham, de maneira natural, a qualidade do alimento embalado é cada vez mais emergencial (BANGAR et al., 2021). Dessa forma, os estudos desenvolvendo embalagens de base biopoliméricas, como os polissacarídeos vem ganhando destaque (MATHEUS et al., 2023a).

Um polissacarídeo natural promissor a ser considerado na substituição de embalagens de materiais à base de petróleo é o amido. Devido a seu baixo custo, fácil processamento em equipamentos, biocompatibilidade com outros aditivos, entre outras características, fazem com que a sua aplicação se torne um considerável motivo de estudo e interesse (BANGAR et al., 2021; MAJEED et al., 2023).

Revisões realizadas por Bangar et al. (2021); Matheus et al. (2023), mostraram como o amido tem sido aplicado e estudado como uma opção para substituição aos plásticos de fontes não renováveis. No entanto, devido à sua estrutura, o amido nativo contém uma grande quantidade de grupos hidroxilas hidrofílicas, tornando-o altamente solúvel em água e com baixa resistência mecânica. Essas características limitam sua aplicação na indústria de embalagens para alimentos (WANG et al., 2020).

Os filmes à base de amido de mandioca modificado têm emergido como uma solução promissora (AMARAWEEERA et al., 2021; WANG et al., 2020). Através da modificação de suas propriedades, pesquisadores têm procurado aprimorar características como resistência mecânica, barreira contra umidade e flexibilidade, tornando esses filmes adequados para diversas aplicações na indústria alimentar (CHENG et al., 2022).

Aliado a modificação do amido, a incorporação de aditivos na matriz polimérica, a exemplo dos óleos essenciais (OE), pode conferir além de um sinergismo em melhores propriedades mecânicas e estabilidade, atividade à embalagem.

Estudos utilizando amido de mandioca nativo incorporados com micropartículas de OE demonstraram melhora nas propriedades mecânicas bem como na estabilidade dos filmes (CAETANO et al., 2018; FERNANDES et al., 2022; SAPPER; CHIRALT, 2018; VEDOVE; MANIGLIA; TADINI, 2021; VIANNA et al., 2021; ZHANG et al., 2023b)

Entretanto, ainda é pouco explorada a utilização de amido modificado como uma matriz polimérica para filmes ativos incorporados com micropartículas. Visto esta lacuna de estudos o presente estudo tem como objetivo investigar como a modificação do amido de mandioca aliada à incorporação de óleo essencial de tomilho livre e encapsulado podem afetar as propriedades físico-químicas e mecânicas dos filmes produzidos. Além disso, essa pesquisa objetiva analisar as mudanças induzidas pela incorporação das micropartículas nas propriedades antimicrobianas e antioxidantes em comparação com a aplicação do óleo livre nesses filmes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais utilizados

O amido de mandioca nativo (AM10, 22% de amilose), amido de mandioca oxidado (Superion 3050, 18% de amilose, DS 0,045 mol/mol) e amido de mandioca eterificado (Superion 300, 17% de amilose, DS 0,035 mol/mol) foram fornecidos pela Horizonte Amidos (Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil). Gelatina (GE) tipo B de pele bovina (244 Bloom, LF 21502/04, Gelita América do Sul, São Paulo, SP, Brasil), goma arábica (GA) (IRX49345, Colloides Naturels Brasil, MW = 300.000 g/mol, São Paulo, SP, Brasil), óleo essencial de tomilho (OET) (Petit Marie, Itaquaquecetuba, SP, Brasil, 53% timol). Meios de cultura Ágar Mueller Hinton (Kasvi, Itália), Brain Heart Infusion (BHI) (Himedia, Índia) e Ágar Batata Dextrose (BDA) (Ion Cult, Índia).

2.2. Preparação das micropartículas por coacervação complexa

As micropartículas foram produzidas pelo método de coacervação complexa conforme descrito por Guimarães et al. (2024). A solução emulsificante de gelatina (2,5% m/v) foi mantida a 50 °C e homogeneizada com 2,5% m/v de OE de tomilho usando um Ultra Turrax T-18 (IKA Words, Inc, USA) a 14.000 rpm por 3 min. Em seguida, adicionou-se essa emulsão em uma solução de goma arábica (2,5% m/v) de mesmo volume e temperatura de 40° C. O pH da dispersão gelatina-goma arábica (GE/GA) foi ajustado com HCl para 4,0. O sistema de gelatina-goma arábica foi mantido sob agitação

magnética ao longo de todo o processo de formação de micropartículas e, em seguida, resfriado para 10 °C usando um banho de gelo. A solução então foi deixada em repouso a 10 °C durante 16 h.

2.3. Caracterização dos coacervados

2.3.1. Eficiência de encapsulação e load da partícula

A quantidade de óleo essencial nas micropartículas foi determinada por leitura em espectrofotômetro a 320 nm (T60 UV-Vis, PG Instruments, Wibtsoft, Reino Unido) (PRATA; GROSSO, 2015). A curva analítica utilizada foi preparada com óleo de tomilho em álcool etílico a 95%. ($y = 5,0 \cdot 10^{-4}x + 0,0824$; $R^2 = 0,9982$). Para a extração do óleo, 2g de micropartículas secas a 70°C/24h foram maceradas em álcool etílico e o sobrenadante retirado com uma seringa com filtro 22µm. A eficiência de encapsulação (EE) foi determinada como massa de óleo extraído das micropartículas em relação ao óleo inserido no processo de produção (teórico), conforme a (Equação 1).

$$EE(\%) = \left(\frac{M_2}{M_1} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

M_1 = massa inicial de óleo utilizada para a encapsulação

M_2 = massa final de óleo presente na solução etanólica, após a extração

A carga das micropartículas é a razão entre a quantidade de óleo encapsulado por massa de partícula avaliada (Equação 2) expressa por g de óleo/g de partícula seca.

$$Carga\ das\ partículas = \left(\frac{M_2}{massa\ de\ partículas\ secas} \right) \quad (\text{Equação 2})$$

2.3.2. Morfologia dos coacervados

O tamanho das micropartículas foi determinado por difração a laser (Mastersizer, M2000 – Malvern Panalytical Ltd., Malvern, Reino Unido), conforme descrito por Almeida et al. (2023).

2.3.3. Microscopia de fluorescência

A estrutura das micropartículas foi analisada através da microscopia de fluorescência (NASCIMENTO et al., 2023), com modificações. Com o auxílio de um microscópio (Axioscope 5, Zeiss, Alemanha) utilizando uma câmera acoplada para capturar imagens (Axioscam 503 color, Zeiss, Alemanha). 1mL de solução de Calco flúor White (0,1 g/L) foi adicionada na solução de gelatina e 1mL de solução de Vermelho Nilo (0,1 g/L) foi adicionado ao óleo essencial antes de realizar a emulsão com gelatina. Os coacervados coletados ao final do processo foram analisados para identificar a parede formada e a localização do óleo essencial nas micropartículas.

2.4. Formação dos filmes

Os filmes foram produzidos pelo método *casting* de acordo com Guimarães et al. (2024), com modificações. As condições de concentração e proporção usadas para a produção dos filmes estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1 Formulação dos filmes.

	Neutro	Oxidado	Eterificado
Concentração de amido (% m/v)	4	4	3
Glicerol (% m/m)	30	30	20
Óleo essencial (% $m_{\text{óleo}}/m_{\text{coacervado}}$)	5	5	5
Micropartículas (% m/v)	5	5	5
Temperatura de Gelatinização (°C)	75	90	70
pH	4,54	7,02	6,76

As dispersões de amidos em água destilada acrescidas de glicerol foram preparadas e mantidas sob aquecimento e agitação magnética (C-MAG-HS7, Ika, Campinas, Brasil) por 30 min, a fim garantir a completa gelatinização do amido (Versino et al., 2016). Em seguida, as soluções foram resfriadas até a temperatura ambiente (30 ± 2 °C) para incorporação do OE ou do coacervado. Posteriormente, foram vertidos 50 g das soluções filmogênicas em placas de acrílico ($\varnothing = 14$ cm) e secas em estufa com ventilação forçada (Nova Ética, Brasil) (35 ± 2 °C) por cerca de 24 horas. A Tabela 2 apresenta a codificação dos filmes que foram avaliados neste trabalho.

Tabela 2 Identificação dos diferentes tipos de filmes produzidos.

Tratamentos	Códigos
Amido neutro/óleo livre	NL
Amido neutro/coacervados	NC
Amido oxidado/óleo livre	OL
Amido oxidado/coacervados	OC
Amido eterificado/óleo livre	EL
Amido eterificado/coacervados	EC

2.5. Caracterização dos filmes ativos

2.5.1. Propriedades mecânicas e espessura

Para avaliação das propriedades mecânicas foram utilizadas amostras de 15 mm de largura e 100 mm de comprimento cortadas em equipamento de alta precisão (RDS-100-C, ChemInstruments, West Chester Township, OH, EUA) e condicionadas, por 48h, a 25 °C e 75% UR. O alongamento na ruptura (EB) (%), e a resistência à tração (TS) (MPa), foram determinados através da máquina universal de testes (Instron, 5966-E2, Norwood, Massachusetts, EUA), com célula de carga de 100 N, velocidade de 12 mm min⁻¹ e com separação inicial de 50 mm. Foram realizadas cinco repetições para cada amostra de filme (ASTM-D882, 2018).

A espessura das amostras foi determinada utilizando micrômetro digital (Mitutoyo Co., Kawasaki-Shi, Japão) com precisão de 0,1 µm. Os valores de espessura foram medidos em quintuplicata, (MARANGONI JÚNIOR et al., 2022).

2.5.2. Conteúdo de umidade, solubilidade e Taxa de Permeabilidade ao Vapor d'água (TPVA)

A umidade e solubilidade dos filmes foram avaliadas através de análises gravimétricas. Os filmes utilizados nas análises foram cortados em quadrados de 2 x 2 cm.

O conteúdo de umidade (MC) foi determinado pela medição da perda de peso do filme ao secar a 105 °C em estufa até o peso constante e calculado de acordo com a Equação 3:

$$MC (\%) = \left(\frac{M_i - M_f}{M_i} \right) \times 100 \quad \text{Equação (3)}$$

Em que: M_i é a massa inicial do filme condicionado a 50%UR e M_f é a massa final do filme após secagem a 105 °C.

Para solubilidade, a matéria seca inicial (M_{si}) dos filmes após secagem em estufa durante a 105 °C foi quantificada. Posteriormente, as amostras foram imersas em 50 mL de água destilada e submetidas a agitação constante (100 rpm) em shaker (Nova técnica NT145, Brasil), por 24 h a 25 °C. As amostras foram então novamente inseridas na estufa a 105 °C até peso constante, a fim de determinar a matéria seca que não se dissolveu (M_{sf}). A solubilidade final foi expressa em porcentagem (%) (Equação 4):

$$\text{Solubilidade (\%)} = \left(\frac{M_{si} - M_{sf}}{M_{si}} \right) \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Em que: M_{si} é a massa inicial do filme seco a 105 °C e M_{sf} é a massa final do filme que não se dissolveu.

Os valores da taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) foram determinados usando o método gravimétrico. Foram utilizadas cápsulas com área de permeação de 50 cm², dessecante de cloreto de cálcio anidro e balança analítica (Mettler Toledo), sendo os testes realizados a 25 °C e 75% UR em câmara climatizada (Weiss Technik, Reiskirchen, Alemanha). A TPVA (g m⁻² d⁻¹) foi determinada a partir da inclinação da curva “*massa versus tempo*”(ASTM-E96-00, 2017).

Todos os testes foram feitos em triplicata.

2.5.3. Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy

As análises de FT-IR foram registradas em um espectrômetro Spectrum 100 (PerkinElmer, Waltham, EUA). As amostras foram analisadas utilizando o modo de refletância total atenuada ATR (cristal de seleneto de zinco), empregando o software Perkin Elmer Spectrum versão 10.4.00, a 4000-650 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹, scan: 4 (ASTM-E573-01, 2021; ASTM-E1252-98, 2021).

2.5.4. Propriedades térmicas

As propriedades térmicas dos filmes de amido foram medidas usando calorimetria diferencial de varredura (DSC) e analisador termogravimétrico (TGA), conforme descrito por Luchese; Rodrigues; Tessaro (2021), com modificações. Foram utilizados aproximadamente 10mg de amostra. Ambas as medições foram realizadas em duplicata, com repetição.

A análise TGA foi realizada aquecendo as amostras de 25 °C a 500 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. A análise térmica foi realizada sob um fluxo de nitrogênio (10 ml/min).

As curvas DSC foram obtidas aquecendo as amostras de 30 °C a 160 °C a 5 °C/min e mantendo por 5 min a 160 °C. As amostras foram então resfriadas a 10 °C e descansadas por 5 min e um segundo ciclo de aquecimento foi realizado até 160 °C a 10 °C/min.

2.5.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia superficial dos filmes foi observada através de um microscópio eletrônico de varredura (Inspect 50, Thermo Fischer Scientific, EUA) com uma tensão de aceleração de 10 kV. Foram observadas a superfície e a fratura dos filmes para análise das fases. Pequenos retângulos de filme foram crio-fraturados por imersão em nitrogênio líquido e depois fixadas na fita carbono.

Todas as amostras foram limpas com ar comprimido e então revestidas com uma fina camada de ouro (BALZERS SCD 004, Liechtenstein) antes da observação, por apresentarem baixa condutividade.

A observação através de microscopia eletrônica de varredura foi realizada em baixo vácuo com tensão de aceleração de 10kV, corrente de filamento de 480 e digitalizações com ampliações de 500x (superfície) e 3000x (transversal).

2.5.6. Cor, Luminosidade, Opacidade

A avaliação de cor dos materiais foi determinada através do colorímetro Minolta CM-5-ID para os parâmetros CIELAB L* a* b*, utilizando D65 (iluminante) e 10° (ângulo de observação), em transmitância. Onde o L* refere-se à luminosidade, o chroma a* indica o eixo verde-vermelho e o chroma b* o eixo azul-amarelo (Konika Minolta, 2019). A análise foi realizada em quintuplicata.

A opacidade dos materiais foi avaliada através do método de teste padrão para transparência de filmes plásticos (ASTM D-1746, 2015) com absorvância de 600nm. Todas as análises foram realizadas em quadruplicatas.

2.5.7. Atividade antimicrobiana

As análises antimicrobianas dos materiais poliméricos foram realizadas através do método de difusão em ágar (ASTM-E2149, 2020). Foram testados os microrganismos: *S. aureus* ATCC6538, *E. coli* ATCC11229 e *Penicillium* sp.

A concentração bacteriana utilizada foi de 1×10^8 UFC/mL, padronizada a 0,5 da escala McFarland. A concentração de fungos utilizada foi de 1×10^8 esporos/mL, padronizada por meio da contagem de esporos em câmara de Neubauer.

Sobre o ágar (Mueller Hinton) impregnado com os microrganismos alvos foram dispostos fragmentos 2 x 2 cm dos filmes (previamente esterilizados em UV) e a atividade antimicrobiana foi verificada pela formação de halos de inibição e/ou redução da densidade microbiana. Para o fungo, o meio de cultura utilizado foi o BDA.

A análise foi realizada em quintuplicata.

2.5.8. Compostos fenólicos e Capacidade Antioxidante

Para as avaliações da capacidade antioxidante, foram preparados extratos dos tratamentos, conforme Constantino; Garcia-Rojas (2022), com adaptações. Foram adicionados 50 mL de metanol em 4g dos filmes e agitados (100 rpm) em um shaker NT145 por 4 h a temperatura ambiente (30 °C). Em seguida, o sobrenadante foi coletado para as seguintes análises antioxidantes. Todas as análises foram realizadas em triplicata, conforme métodos descritos a seguir.

a) Fenólicos Totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin Ciocalteu descrito por Singleton; Rossi, (1965). Foi preparada uma solução contendo 1 mL de Folin Ciocalteu + 1 mL do extrato + 1 mL de água destilada. Em seguida, adicionou-se 1 mL de solução de Na_2CO_3 (10% p/p), homogeneizou-se e manteve-se o sistema no escuro por 90 minutos. Foi feita a leitura no espectrofotômetro a 725 nm e o conteúdo de fenólicos foi expresso em mg ácido gálico equivalente/ g amostra. A curva analítica utilizada foi preparada com ácido gálico em água destilada ($y = 64,026x + 2,9961$; $R^2 = 0,9904$). Os resultados foram expressos em μg equivalentes de ác. gálico/g amostra.

b) FRAP

Em ambiente escuro, diluiu-se uma alíquota de 90 μL do extrato em 270 μL de água destilada e adicionou-se 2,7 mL do reagente FRAP previamente preparado, homogeneizou-se em um tubo vedado e este foi levado em um banho de água a 37 °C durante 30 minutos, após resfriamento foi feita a leitura a 595 nm. Foi utilizado o reagente de FRAP como branco. A curva analítica utilizada foi preparada com trollox em álcool

etílico a 50%. ($y = 112,63x - 1,7608$; $R^2 = 0.9913$). Os resultados foram expressos em μg equivalentes de Trolox/g amostra (RUFINO et al., 2006).

c) ABTS⁺

Em ambiente escuro, foram adicionadas alíquotas de 30 μL de cada extrato para tubos de ensaio com 3,0 mL do radical ABTS⁺ e homogeneizado em agitador de tubos. A leitura foi realizada (734 nm) após 6 minutos da mistura e utilizado o álcool etílico, como branco. A curva analítica utilizada foi preparada com trolox em álcool etílico a 50%. ($y = -2893,5x + 2295,4$; $R^2 = 0.9911$). Os resultados foram expressos em μg equivalentes de Trolox/g amostra (RUFINO et al., 2007).

2.6. Análise estatísticas

Todos os dados estão expressos como média \pm desvio padrão. Análises de variância de dois fatores (ANOVA2WAY) foram realizadas no software Origin® 8.0, e o teste de Tukey foi usado para determinar a existência de diferenças significativas ao nível de 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Caracterização das micropartículas

As micropartículas exibiram tamanho médio de 10 μm e a distribuição monomodal, sugerindo sua melhor capacidade de dispersão na fase aquosa (Figura 1). Através da coacervação complexa, obteve-se a solução coloidal do complexo polissacarídeo-proteína permitindo o encapsulamento do OET com uma eficiência de encapsulação de 90%, carregando 0,29g de óleo/g de partícula seca formada.

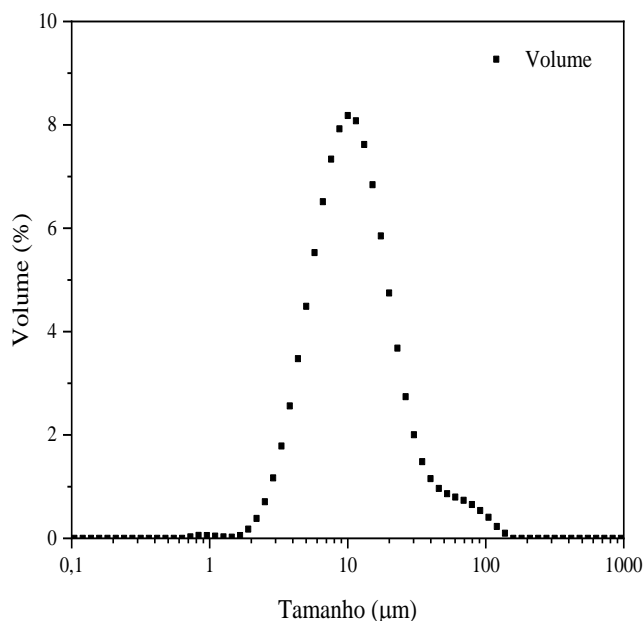


Figura 1 Distribuição do tamanho das micropartículas.

O tamanho das micropartículas coacervadas, bem como sua eficiência de encapsulação podem ser influenciadas por fatores, como: pH, temperatura, interação núcleo/parede, velocidade de homogeneização (LESCANO et al., 2014). Um estudo realizado por Guo et al. (2022) relatou que o aumento da força de ligação entre o carvacrol e os materiais do núcleo/parede diminuiu o tamanho das gotas e que a interação mais forte ocorreu com pH 4,1. No presente estudo, o pH utilizado foi similar (4,0) e o carvacrol é um dos componentes majoritários do OET utilizado (GONÇALVES et al., 2017b). Esses parâmetros podem ter contribuído para o tamanho e a boa eficiência de encapsulação. Liu; Xue; Adhikari (2023) obtiveram tamanho de 11,8 µm encapsulando óleo essencial de orégano usando proteína isolada de cânhamo e goma-arábica.

Outros autores relataram resultados de EE (%) similares com os observados no presente estudo. Por exemplo Almeida et al. (2023) obtiveram valores de EE (%) de aproximadamente 95 e 87% para orégano e tomilho, respectivamente, usando gelatina-goma arábica em pH 4,0. Prata e Grosso (2015) encontraram resultado semelhante ao investigar a influência que o material de parede e o tipo de óleo encapsulado podem ter na eficiência de encapsulação e nas características morfológicas de micropartículas pelo método coacervação complexa. No estudo, ao microencapsularem micropartículas de OE de Vetiver em GE/GA na mesma proporção (1:1), os autores produziram coacervados com morfologia similar ao encontrado nesta pesquisa, com uma eficiência de encapsulação de aproximadamente 92%.

Gonçalves et al. (2018) ao compararem a microencapsulação do OET em diferentes combinações de gelatina, quitosana e goma arábica, verificaram que a utilização da GA torna a encapsulação do OET mais eficiente. As micropartículas formadas por GE/GA também apresentaram estruturas multinucleares e com 89,9 % de EE.

É possível verificar através da microscopia (Figura 2) formação de micropartículas multinucleadas (A) e com baixo grau de agregação (B). Essa estrutura pode estar associada à capacidade que o OE tem de formar gotas de emulsão menores e mais estáveis, permitindo sua incorporação na matriz coacervada em maior número. Através da fluorescência (C e D) foi possível verificar a formação do complexo polissacarídeo-proteína (C) e que OET se encontra dentro das micropartículas (D). Isto pode ser atribuído às boas propriedades emulsificantes dos coacervados do complexo GE-GA, que podem formar uma camada de adsorção ao redor da gota de OE, consequentemente resultando em alta eficiência.

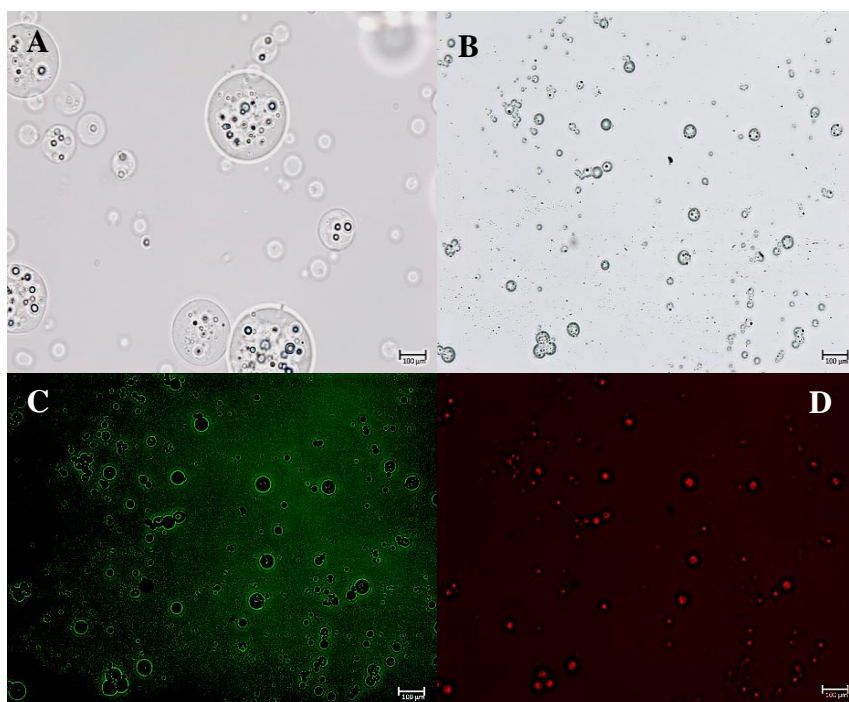


Figura 2 Microscopia de fluorescência dos Coacervados. A - partícula na objetiva 40x; B - micropartículas ampliadas 10x; C- Micropartículas ampliadas 10x no comprimento de onda 488nm; D - Micropartículas ampliadas 10x no comprimento de onda 610nm.

3.2. Caraterização dos filmes ativos

3.2.1. Propriedades Mecânicas

Através do teste de resistência à tração e alongamento na ruptura é possível compreender as propriedades mecânicas dos materiais, incluindo a capacidade de resistir a forças de estiramento dos filmes (OLUWASINA et al., 2019). A adição de coacervados influenciou no aumento da resistência à tração dos filmes neutros (Figura 3). Essa observação pode ser atribuída à presença de ligações de hidrogênio extensivas entre os grupos hidroxila da matriz de amido e os grupos hidroxila das microcápsulas, aumentando assim a estrutura em rede do filme.

Resultado similar foi reportado por Wang et al. (2019), que observaram a incorporação de nanopartículas de casca de laranja em filmes à base de amido de milho. Segundo os autores, esse comportamento se deu devido à formação de novas ligações de hidrogênio com o grupo hidroxila, alterando as propriedades do filme e aumentando a resistência à tração e o alongamento na ruptura, em comparação com o filme controle (apenas amido).

Nos filmes com amidos modificados, essa adição não foi significativa para resistência à tração, porém afetou o parâmetro de alongamento na ruptura dos filmes oxidados.

É possível observar que o alongamento na ruptura dos filmes neutro e oxidados com coacervados foram menores comparado aos mesmos filmes com óleo livre.

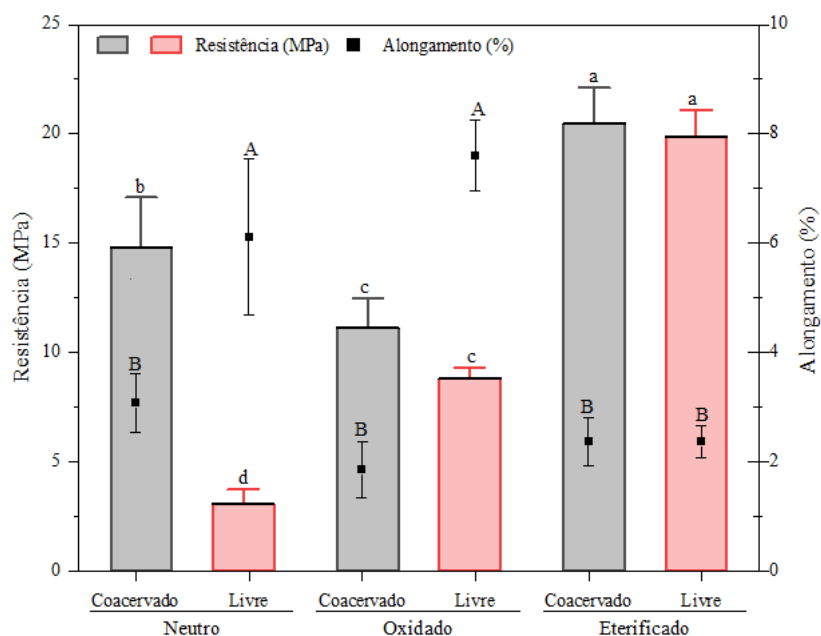


Figura 3 Propriedades mecânicas dos filmes. *Letras maiúsculas iguais, não há diferença ($p < 0,05$) no alongamento, pelo Teste de Tukey. Letras minúsculas iguais, não há diferença ($p < 0,05$) na resistência, pelo Teste de Tukey.

Segundo Colivet; Carvalho (2017), alongamento na ruptura está relacionada com o aumento da mobilidade das cadeias na região amorfa do filme e à capacidade de absorção de água da matriz. Zhang et al. (2020) observaram que o óleo essencial de tomilho tem efeito plastificante, promovendo o movimento das cadeias poliméricas e melhorando a flexibilidade do filme, aumentando assim o alongamento na ruptura dos filmes. Foi relatado que adicionar o óleo essencial de canela também aumentou o alongamento na ruptura do filme de gelatina (ZHOU et al., 2021), conforme os resultados encontrados neste estudo.

Elevados valores de alongamento na ruptura e baixa resistência à tração resultam em baixa elasticidade, sugerindo menor rigidez do material (WANG et al., 2022), como podem ser observados nos filmes neutros e oxidados com óleo livre incorporado, onde a resistência à tração foi significativamente baixa.

A diminuição da resistência do filme neutro à tração pode ser atribuída principalmente ao fato de que o óleo essencial de tomilho pôde penetrar facilmente na rede de biopolímeros, o que reduziu as interações intra e intermoleculares. Isso enfraqueceu a matriz contínua do filme, resultando na substituição parcial das interações poliméricas intermoleculares mais fortes pelas interações polímero-óleo mais fracas na matriz do filme (ZHOU et al., 2021). A microencapsulação, neste caso, mostrou-se ser uma boa opção para manter a boa resistência dos filmes. Estudo realizado por Rodrigues et al., (2020) apresentou resultado similar, ao encapsular óleo de copaíba e aplicar em filme de amido de mandioca.

Os filmes eterificados com óleo livre incorporado apresentaram resistência mecânica 10 x maior quando comparado com filme neutro e 2 x quando comparado com o filme oxidado. Pode ser que a eterificação do amido tenha permitido uma interação mais forte das cadeias poliméricas levando à compactação das moléculas do filme, o que exigiria uma resistência maior para quebrar, resultando assim em uma maior resistência à tração. A incorporação óleo livre, não influenciou nas propriedades elásticas desses filmes, provavelmente por esse filme apresentar uma melhor rede biopolimérica.

3.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens dos filmes incorporados com OET livre e microencapsulados obtidas através do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) podem ser observadas na Figura 4. Os filmes OL, apresentaram alguns grânulos que não foram completamente dissolvidos durante o processo de gelatinização. Nas imagens dos filmes EL, é possível observar

grânulos inchados, porém também não dissolvidos completamente. Pode ter ocorrido uma baixa força de cisalhamento durante a agitação, originando grânulos constituídos de restos de cadeia de amilopectina na fase líquida.

Os filmes NL e OL apresentaram tanto na sua superfície quanto no seu corte transversal, “manchas” que indicam a presença do OET livre na sua estrutura, bem como a presença de pequenas bolhas, que justificam a baixa resistência mecânica desses filmes.

Já os filmes com micropartículas, nota-se de forma geral, uma superfície um pouco mais rugosa, porém com estrutura mais uniforme, conferindo boa dispersão dos coacervados e uma maior resistência.

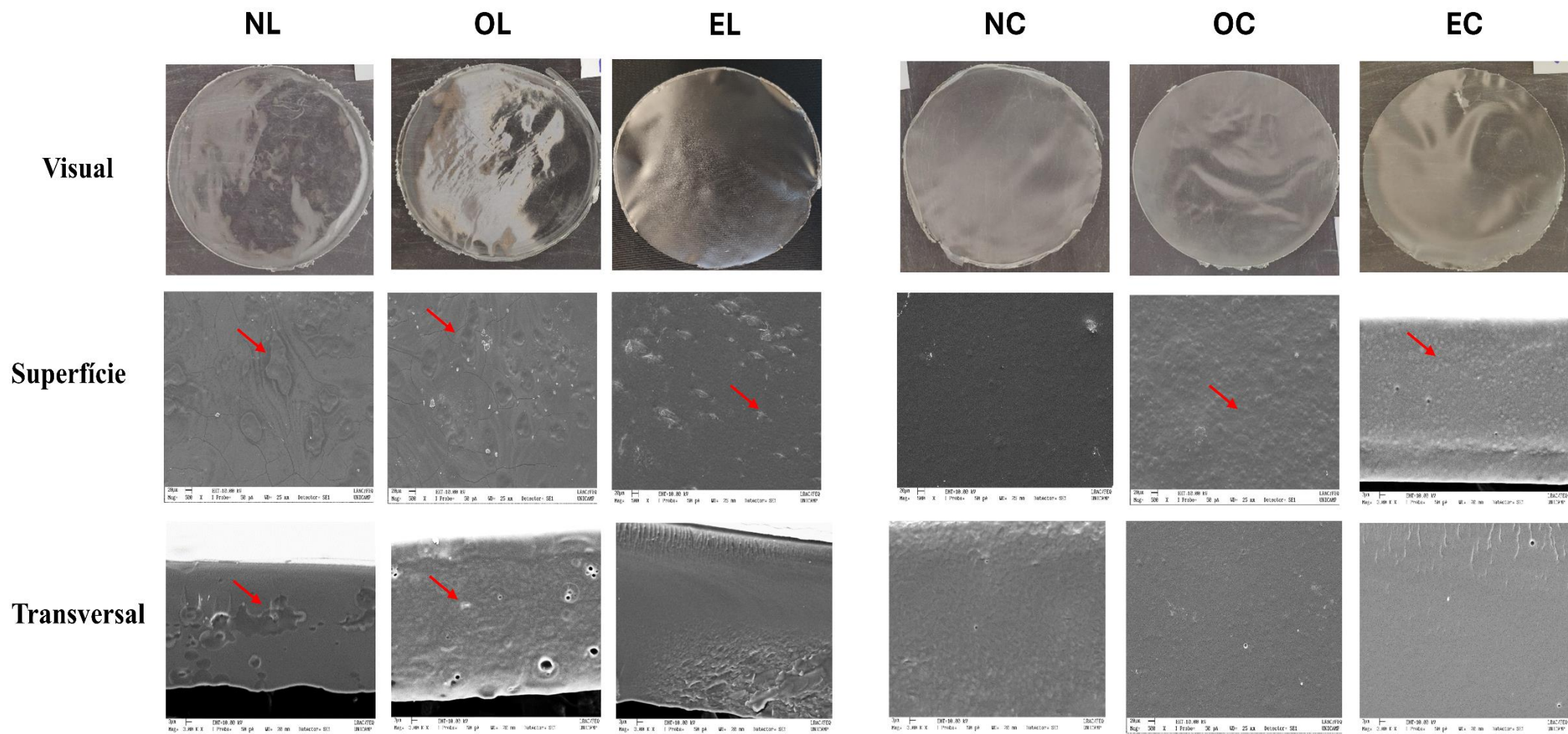


Figura 4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) dos filmes

As microscopias estão semelhantes as apresentadas por Ghoshal e Shivani, (2022) os quais relataram as manchas de OET presentes na estrutura dos filmes de amido de tamarindo com whey protein bem como a rugosidade nos filmes que continham nanopartículas do OET. Já os filmes de amido e quitosana incorporados com ácido cítrico e óleo essencial de orégano desenvolvidos por Hernández; Ludueña e Flores, (2023) não apresentaram essas manchas. Fator como força de cisalhamento na homogeneização podem influenciar na dispersão do OE na solução. Uma maior força (velocidade), ajudam na dispersão e homogeneização do óleo no meio (VIANNA et al., 2021).

3.2.3. Conteúdo de umidade, solubilidade TPVA e espessura

Como visto nas propriedades mecânicas, o óleo essencial de tomilho (OET) tem efeito plastificante e pode ter agido em sinergia com o glicerol, assim, aumentado a plastificação dos filmes de amido neutro (NL) e amido oxidado (OL) (Figura 3). No tratamento NL, esse aumento do efeito plastificante foi mais evidente, uma vez que esses filmes são normalmente mais rígidos sem OET (GUIMARÃES et al., 2024), consequentemente, sua taxa de transmissão de vapor de água (TPVA) foi alta (Tabela 3). De acordo com Colivet e Carvalho (2017), a plastificação é um dos fatores que influenciam o aumento da TPVA, pois é favorável à adsorção e absorção de água, devido ao aumento da mobilidade das cadeias poliméricas, aumentando o volume livre do material.

Tabela 3 Efeito da incorporação de óleo de tomilho, diretamente e microencapsulado, sobre o conteúdo de umidade, solubilidade e TPVA e espessura dos filmes à base de amido.

Tratamentos	Conteúdo de umidade (%)	Solubilidade (%)	TPVA (g.m ⁻² dia ⁻¹)	Espessura (µm)
NL	14,75±0,52 ^b	49,25±2,21 ^d	662,34±14,17 ^a	110,72±2,98 ^d
NC	16,25±0,95 ^b	26,75±0,95 ^f	490,89±4,38 ^b	133,50±3,69 ^c
OL	15,61±0,55 ^b	66,25±1,5 ^c	364,44±2,40 ^d	147,51±2,64 ^b
OC	18,81±0,44 ^a	34,01±0,82 ^e	302,24±1,78 ^e	163,25±2,64 ^a
EL	5,70±0,75 ^c	100±0,00 ^a	363,97±9,60 ^c	90,00±0,81 ^f
EC	7,18±0,44 ^c	96,5±1,5 ^b	351,39±1,32 ^d	100,75±0,81 ^e

*Letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a nível de significância de 5%. NL=Neutro com OET livre; NC= Neutro com OET encapsulado; OL = Oxidado com OET livre; OC= Oxidado com OET encapsulado; EL= Eterificado com OET livre; EC = Eterificado com OET encapsulado

Em contraste, observa-se que a adição micropartículas foi responsável por aumentar a umidade, uma vez que foram incorporadas úmidas às soluções filmogênicas, porém diminuíram a TPVA dos filmes, o que poderia ser explicado pelo fato de que os coacervados promoveram sua hidrofobicidade (MUKURUMBIRA et al., 2022).

Observando apenas a modificação dos amidos, nota-se a redução da TPVA em mais de 50%, passando de 662,34 g.m⁻².dia⁻¹ (NL) para 364,44 g.m⁻².dia⁻¹ (OL) e 363,97 g.m⁻² dia⁻¹ (EL).

O mesmo comportamento foi observado na espessura, onde filmes em que foram adicionados os coacervados, a espessura foi maior quando comparado ao óleo livre. Esse comportamento pode ter se dado durante o processo de secagem, onde as micropartículas aglomeram-se em certas regiões do filme, resultando em variações na espessura. Através da microscopia (Figura 6) é possível observar que a superfície dos filmes com as micropartículas apresentou uma superfície mais rugosa, podendo ter causado essa maior espessura. Resultado similar foi reportado por Cai et al. (2020), ao incorporar coacervados de OET em filmes de amido. Os autores observaram que a espessura dos filmes com as micropartículas aumentou com o aumento da concentração de coacervados.

A solubilidade em água dos filmes variou de 26% para NL a 100% para EL, sendo este último 100% solúvel (Tabela 3). Vicentino et al. (2011) também obtiveram 100% de solubilidade em filmes de amido de mandioca eterificado ao produzir filmes com seis tipos de fécula de mandioca misturados com gelatina e plastificados com sorbitol para conservação de uvas.

A solubilidade é um fator determinante para a aplicação dos filmes como embalagens de produtos alimentícios. Em alguns casos, como nos produtos semiprontos destinados ao preparo sob cozimento, a completa solubilização em água pode ser vantajosa. No entanto, quando o alimento exsuda uma solução aquosa, filmes altamente solúveis não são adequados. Filmes com solubilidade moderada apresenta uma maior gama de aplicabilidade, uma vez que não há liberação de exsudado, além de facilitar a remoção do filme para o consumo, como é o caso dos amidos de mandioca modificados, com exceção do eterificado, que possui alta solubilidade.

3.2.4. FTIR

Para entender melhor o efeito da incorporação do OET livre e microencapsulado nos filmes de amido, foi realizada análise FTIR das amostras. Bandas espectrais de FTIR correspondentes dos filmes são mostradas na Figura 5. Todos os filmes mostram as

bandas características de amido em 3300 cm^{-1} (alongamento O-H), 2930 cm^{-1} (estiramentos C-H de alcanos), 1645 cm^{-1} (flexão O-H) e 1149 cm^{-1} (alongamento C-O) (GHOSHAL; SHIVANI, 2022).

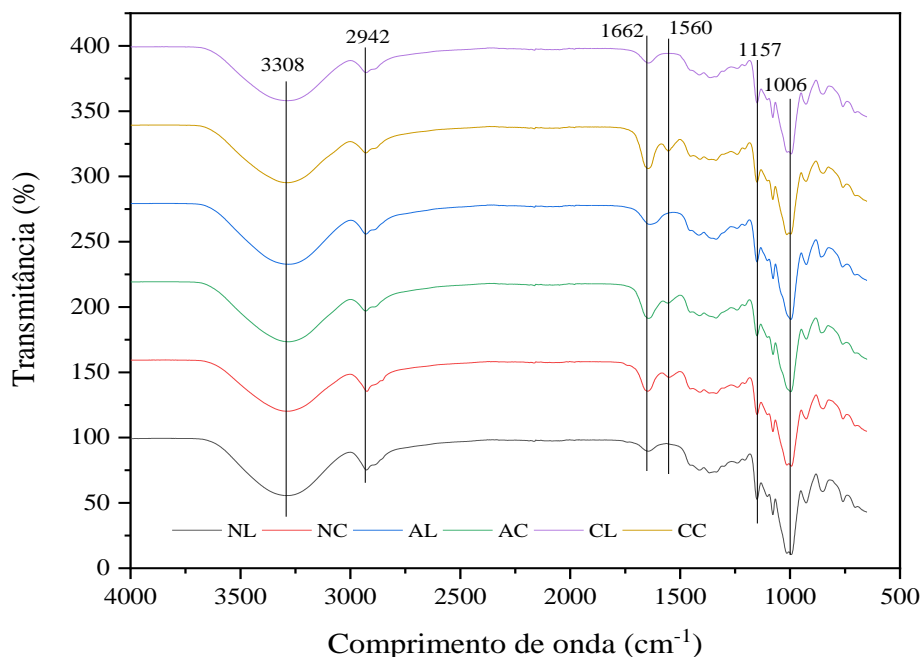


Figura 5 FTIR dos films de amido com OET livre e microencapsulado.

Comparando apenas a incorporação do OET aos filmes de amido, os espectros de FT-IR dos filmes contendo micropartículas mostraram pequena bandas em 1560 cm^{-1} . Esta região é característica dos grupos amida tipo II (alongamento -NH) encontrados na estrutura da gelatina (CONSTANTINO; GARCIA-ROJAS, 2022). Esse resultado pode estar relacionado à presença da gelatina que compõe a parede dos coacervados confirmando que as micropartículas estão presentes na estrutura dos filmes. Além disso, é possível observar também, um aumento na intensidade da banda em 1662 cm^{-1} (flexão O-H). A intensidade da banda em 3308 cm^{-1} (alongamento O-H) diminuiu com a incorporação das microcápsulas. Uma possível razão desse comportamento pode ser devido à natureza hidrofílica das micropartículas que alteraram o estado existente das moléculas de água da matriz de amido e formaram novas ligações de hidrogênio com elas.

Os resultados presentes estão de acordo com os relatados por Ghoshal e Shivani, (2022) para filmes de amido de tamarindo e *whey protein* fabricados com nanoemulsões óleo essencial de tomilho. Cai et al. (2020) relataram espectros semelhantes em um filme à base de amido de milho incorporado com diferentes concentrações de microcápsulas de OE de tomilho.

3.2.5. Propriedades térmicas

A decomposição térmica dos filmes foi avaliada na faixa de temperatura de 25 a 500 °C e o resultado está representado na Figura 6. Na primeira etapa, a degradação térmica ocorre normalmente em consequência da evaporação de água livre e compostos de baixo peso molecular (LIU; XUE; ADHIKARI, 2023). As amostras com micropartículas perderam em média 9% de massa e com óleo livre 15%. Essa maior perda dos filmes com óleo pode ser referente à evaporação de água livre juntamente com os compostos voláteis de baixo peso molecular do OET. Em seguida, inicia-se uma segunda perda de massa, que chega a cerca de 250 °C. A perda de massa nessa faixa de temperatura em filmes à base de amido tem sido reportada como uma de decomposição do glicerol (CAI et al., 2020). A perda de massa mais significativa foi observada na terceira etapa, a partir de 300 °C, que corresponde à degradação do amido (WANG et al., 2019).

Os filmes de amido modificado apresentaram temperatura de degradação (aprox. 300 °C) dentro do encontrado na literatura (NARVÁEZ-GÓMEZ et al., 2021; OLUWASINA et al., 2019; SILVIA et al., 2021) (Figura 6).

Os filmes OL e OC apresentaram menor perda de massa quando comparados com os demais, apresentando, dessa forma, uma melhor estabilidade térmica, o que está de acordo com a literatura (OJOGBO; OGUNSONA; MEKONNEN, 2020). Além disso, eles também apresentaram picos maiores na segunda etapa, relacionada a degradação do glicerol, que pode ter sido maior, devido à baixa viscosidade que esse tipo de amido apresenta.

Através da primeira derivada da curva, é possível observar a redução dos picos nos filmes com incorporação de micropartículas, mostrando que as micropartículas reduziram a perda de massa, ou seja, melhoram a estabilidade térmica. Comportamento semelhante pode ser observado para a temperatura de transição vítrea. A partir das curvas DSC (Figura 7) o material com óleo livre apresentou transição vítrea menor. Já a adição das micropartículas deslocou as Tg para cerca de 137,27 °C, no filme EC. Uma hipótese para ter ocorrido essa maior Tg pode ser atribuída ao fato de haver pouca água disponível no sistema, uma vez que esse amido possui alta viscosidade e a adição das micropartículas reduziu ainda mais a quantidade de água livre no sistema.

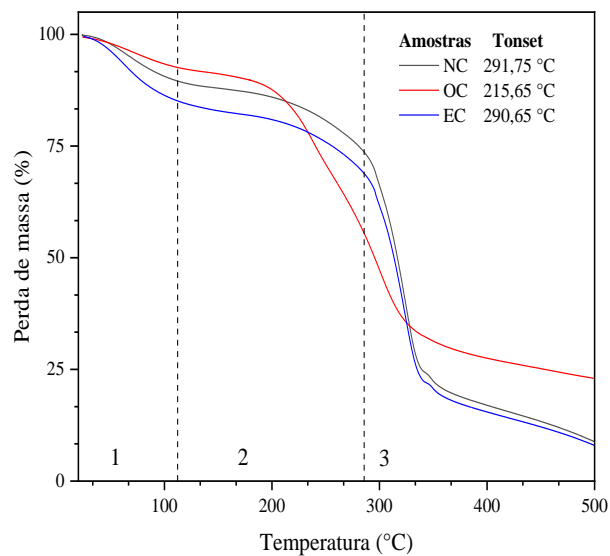
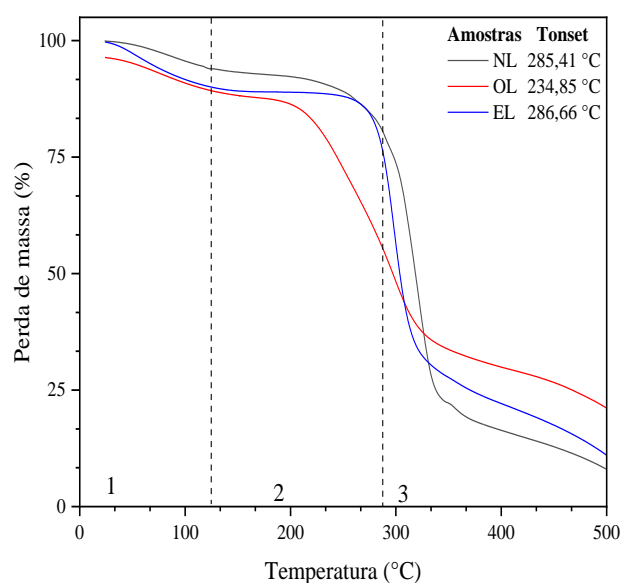
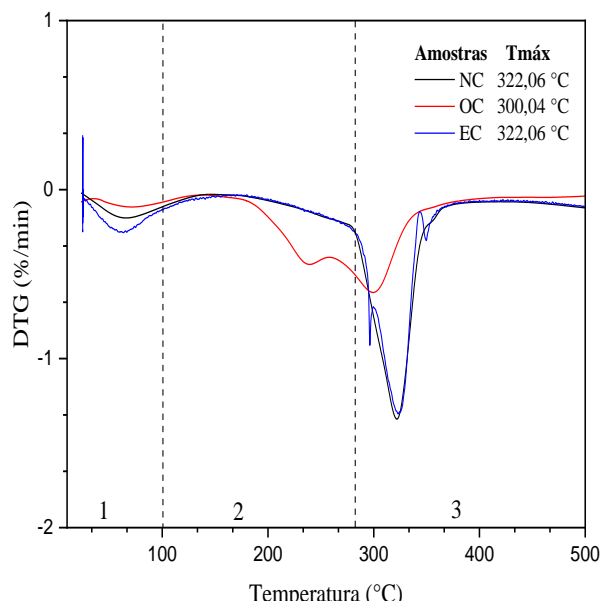
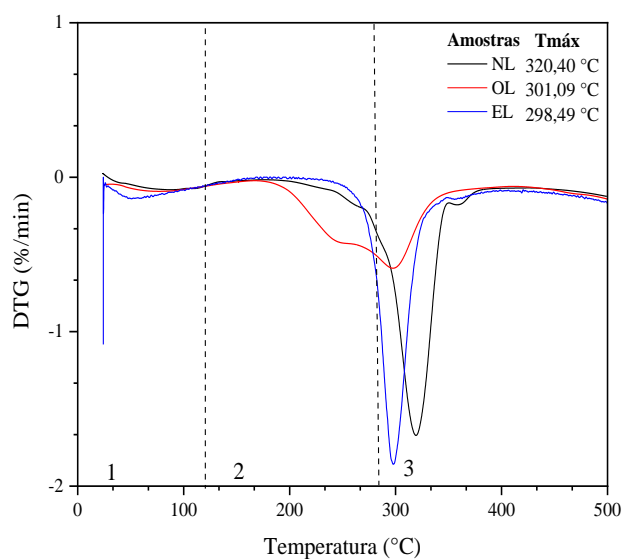
A**B**

Figura 6 Curva termogravimétrica (A) e 1ª derivada (B) dos filmes com OET livre e microencapsulado

Considerando os resultados obtidos por TGA e confirmados por DSC, pode-se afirmar que a adição das micropartículas resultou em uma melhoria na estabilidade térmica dos filmes à base de amido modificado.

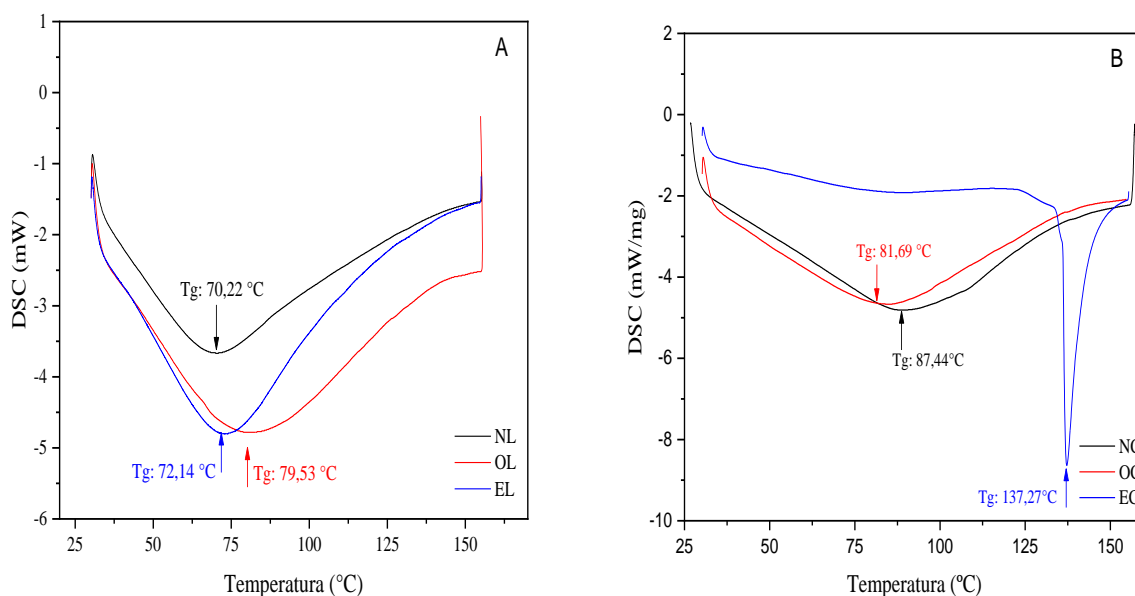


Figura 7 Curvas DSC dos filmes com OET livre (A) e microencapsulado (B)

3.2.6. Cor e Opacidade

Os dados da Tabela 4 mostram os parâmetros de cor e opacidade dos filmes. Quanto maior a luminosidade (valor de L^*), espera-se que menor seja a sua opacidade.

Isto pode ser observado nos filmes oxidados (OL e OC) e eterificados (EL e EC) onde os filmes oxidados apresentaram maior luminosidade e a opacidade menor enquanto os filmes eterificados (EL e EC) apresentaram menor luminosidade e maior opacidade. A análise visual (Figura 4) confirma a opacidade obtida por espectroscopia. Os filmes EL foram os mais opacos, apresentando aproximadamente 14x e 5x mais opacidade do que os filmes OL e NL, respectivamente.

Tabela 4 Efeito da incorporação de óleo de tomilho, diretamente e microencapsulado, sobre o conteúdo de cor e opacidade dos filmes à base de amido.

Tratamentos	Cor			Opacidade
	L	a*	b*	
NL	97,36±0,12 ^{cd}	0,08±0,06 ^{bc}	0,67±0,12 ^b	1,23±0,07 ^c
NC	97,07±0,15 ^{abc}	0,13±0,06 ^b	1,05±0,07 ^a	0,87±0,08 ^c
OL	97,78±0,40 ^a	0,11±0,04 ^{bc}	1,10±0,26 ^a	0,36±0,03 ^d
OC	97,24±0,27 ^{bc}	0,25±0,06 ^a	1,05±0,13 ^a	1,03±0,02 ^c
EL	96,72±0,08 ^d	0,03±0,01 ^c	0,05±0,04 ^a	5,32±0,4 ^a
EC	97,53±0,09 ^{ab}	0,13±0,02 ^{bc}	1,06±0,07 ^b	2,12±0,02 ^b

*Letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a nível de significância de 5%. NL=Neutro com OET livre; NC= Neutro com OET encapsulado; OL = Oxidado com OET livre; OC= Oxidado com OET encapsulado; EL= Eterificado com OET livre; EC = Eterificado com OET encapsulado

Um dos fatores que podem contribuir para o aumento da opacidade dos filmes é a reorganização da amilose e amilopectina, após a gelatinização, proporcionando uma estrutura mais amorfa do que o grânulo bruto (MOREIRA; MOREIRA; PRATA, 2024) nas cadeias poliméricas. O amido eterificado tende a ser mais amorfo que o amido neutro e oxidado, pois a introdução de grupos éter nas moléculas de amido, podem interromper as interações intramoleculares e intermoleculares, resultando em uma estrutura mais amorfa (OJOGBO; OGUNSONA; MEKONNEN, 2020). Comportamento similar foi reportado por Zhang et al. (2022) ao sintetizar filme de amido modificado com ingredientes bioativos para aplicação em cerejas.

Observou-se também uma tendência de aumento do tom vermelho nos filmes com coacervados devido ao aumento do valor a*. De maneira semelhante, o tom amarelo, representado pelo valor b*, também aumentou com a incorporação dos coacervado, o que pode estar relacionado à presença das micropartículas presente na composição dos filmes.

3.2.7. Atividade Antimicrobiana

Todos os filmes apresentaram atividade antimicrobiana frente aos microrganismos testados (Tabela 5). Entre as duas bactérias testadas, o efeito inibitório das microcápsulas de OET foi o melhor sobre *S. aureus* (gram-positiva) do que sobre *E. coli* (gram-negativa). Devido à estrutura mais simples e permeável da parede celular das bactérias Gram-positivas, elas são geralmente mais susceptíveis à atividade dos óleos essenciais do que as bactérias Gram-negativas (BOUTAKIOUT et al., 2022). Estudos

reportados na literatura corroboram com os resultados encontrados (GUIMARÃES et al., 2024; HE et al., 2022; PEIXOTO et al., 2023)

Tabela 5 Halos de inibição (mm) dos filmes de amido modificados incorporados com OET direto e microencapsulado.

Tratamentos	Microrganismos (mm)		
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>Penicillium sp.</i>
NC	14,5±0,25 ^c	6,74±0,32 ^c	7,36±0,27 ^b
NL	10,42±0,22 ^f	5,275±0,35 ^d	5,55±0,31 ^c
OC	15,58±0,44 ^b	8,05±0,24 ^b	8,52±0,15 ^a
OL	12,45±0,13 ^e	6,375±0,44 ^c	6,78±0,17 ^b
EC	16,27±0,09 ^a	10,03±0,33 ^a	8,95±0,5 ^a
EL	13,57±0,45 ^d	8,55±0,34 ^b	6,78±0,5 ^b

*Letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a nível de significância de 5%. NL=Neutro com OET livre; NC= Neutro com OET encapsulado; OL = Oxidado com OET livre; OC= Oxidado com OET encapsulado; EL= Eterificado com OET livre; EC = Eterificado com OET encapsulado

Estudos mostram que o OET tem boas propriedades antimicrobianas e essa propriedade é normalmente atribuída aos seus compostos fenólicos como o timol e carvacrol (ABHISHEK BISWAL; PAZHAMALAI, 2021; GALOVIČOVÁ et al., 2021a; POSGAY et al., 2022). Existem diferentes mecanismos de ação desses s compostos fenólicos presentes nos OEs, um deles é a capacidade que esses compostos tem de interagir e alterar a bicamada lipídica da membrana celular das bactérias, causando liberação dos constituintes intracelulares vitais (VIANNA et al., 2021).

Embora a membrana externa das bactérias Gram-negativas geralmente forneça uma barreira adicional à atividade dos óleos essenciais, a composição específica dos óleos, os mecanismos de ação dos compostos bioativos e as condições experimentais podem influenciar a susceptibilidade dessas bactérias (ANDRADE-OCHOA et al., 2021).

Estudo realizado por Wang et al. (2021), demonstrou que a capacidade inibitória do óleo essencial de gengibre sobre bactérias Gram-negativas é maior do que sobre bactérias Gram-positivas Os óleos essenciais são misturas complexas de vários compostos bioativos, e alguns desses compostos podem ter uma atividade antimicrobiana mais pronunciada contra bactérias Gram-negativas (ANDRADE-OCHOA et al., 2021).

É possível observar que os filmes com OET livre, apresentaram menores halos de inibição, o que não corrobora com o resultado de compostos fenólicos. Uma razão para tal resultado pode estar relacionado à alta volatilização desses compostos, que podem ter reduzido a eficiência antimicrobiana dos filmes (MUKURUMBIRA et al., 2022).

Um dos objetivos de utilizar a microencapsulação é proteger o OET da volatilização (FERNANDES et al., 2022). Neste estudo, isto foi verificado, visto que a microencapsulação permitiu uma melhor atividade antibacteriana e antifúngica. Esse comportamento, é similar ao reportado na literatura (ANSARIFAR; MORADINEZHAD, 2022; BECERRIL; NERÍN; SILVA, 2020; PEIXOTO et al., 2023).

3.2.8. Compostos fenólicos e Capacidade Antioxidante

O teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante (FRAP e ABTS⁺) dos filmes podem ser observados na Tabela 6. Valores mais altos indicam uma maior capacidade antioxidante da amostra, o que significa que ela tem uma maior capacidade de neutralizar os radicais livres e proteger contra o estresse oxidativo (BASAVEGOWDA; BAEK, 2021).

Os filmes com OET livre apresentaram concentrações de compostos fenólicos superiores ($p < 0,05$) aos filmes com micropartículas, sendo o NL com a maior concentração. No OET, os principais compostos fenólicos são o timol, γ -terpineno, p-cimeno e carvacrol (ABHISHEK BISWAL; PAZHAMALAI, 2021). Os compostos fenólicos presentes nos OEs são os principais responsáveis pela capacidade antioxidante (CARPENA et al., 2021). Filmes de quitosana e gelatina incorporados com OE de orégano apresentaram atividade antioxidante similar ao do presente estudo (GALINDO et al., 2019)

Tabela 6 Efeito da incorporação de óleo de tomilho, diretamente e microencapsulado, sobre o conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante (FRAP e ABTS⁺)

Tratamentos	Fenólicos (mg ác. gálico/g filme)	FRAP (μ M trollox/g filme)	ABTS ⁺ (μ M trollox/g filme)
NL	1073,57 \pm 1,31 ^a	931,46 \pm 1,87 ^a	1055,33 \pm 1,14 ^a
NC	625,97 \pm 5,14 ^c	360,03 \pm 2,83 ^c	758,59 \pm 2,69 ^c
OL	530,24 \pm 0,83 ^e	433,91 \pm 3,33 ^d	864,28 \pm 2,78 ^e
OC	498,68 \pm 3,41	155,78 \pm 5,56 ^b	657,68 \pm 2,45 ^b
EL	644,04 \pm 3,86 ^f	383,82 \pm 1,70 ^d	753,07 \pm 5,10 ^d
EC	479,19 \pm 6,40 ^b	147,46 \pm 2,65 ^c	694,96 \pm 1,87 ^c

*Letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a nível de significância de 5%. NL=Neutro com OET livre; NC= Neutro com OET encapsulado; OL = Oxidado com OET livre; OC= Oxidado com OET encapsulado; EL= Eterificado com OET livre; EC = Eterificado com OET encapsulado.

A presença desses compostos justifica a boa capacidade antioxidante (FRAP e ABTS⁺) dos filmes. O fato do OET estar livre na matriz polimérica pode ter favorecido a

maior liberação no meio, gerando capacidade antioxidante maiores. Já nos filmes com micropartículas, houve a necessidade de migração do OET do interior das partículas, para matriz polimérica, para que este fosse liberado para meio, e o tempo de reação pode ter influenciado em menores valores de captura de radicais. Wang et al. (2021) observaram que a capacidade antioxidante do OE de gengibre também foi influenciada pela microencapsulação e incorporação em filmes de gelatina. Os autores verificaram que nos filmes com microcápsulas, a liberação dos óleos essenciais foi mais suave e sustentável ao longo de 15 dias quando comparado com OE livre.

4. CONCLUSÃO

Através do presente trabalho, foi investigada formação de coacervados complexos GE/GA para microencapsular a OET e sua aplicação em filmes de amido neutro e modificado. Os coacervados complexos formados encapsularam 90% do OET, garantindo sua proteção. Foi possível incorporar do OET, diretamente ou em micropartículas em todos os filmes de amido. Observou-se que a combinação da modificação do amido com a incorporação das micropartículas melhoraram a resistência mecânica, térmica e a barreira ao vapor d'água dos filmes. A incorporação de ambas as formas de óleo reduziu a rugosidade, solubilidade, teor de umidade e taxa de transmissão de vapor de água (WVTR). Apesar dos filmes com OET livre terem apresentado melhor capacidade antioxidante, a microencapsulação permitiu uma melhor integração do óleo essencial na matriz polimérica em comparação com a incorporação direta, resultando em uma atividade antimicrobiana mais eficiente.

Dessa forma, pode-se concluir que as micropartículas formadas por coacervação complexa podem ser usadas para produzir filmes ativos de amido modificado capazes de proteger de maneira natural e sustentável os alimentos, tornando possível, dessa forma, projetar soluções de embalagens ativas que prolongam a vida útil e melhoram a qualidade dos alimentos.

REFERÊNCIAS

- ABHISHEK BISWAL, R.; PAZHAMALAI, V. Chapter 13 - Thymol. Em: MUSHTAQ, M.; ANWAR, F. (Eds.). **A Centum of Valuable Plant Bioactives**. [s.l.] Academic Press, 2021. p. 275–290.
- ABRE. **Estudo macroeconômico da embalagem e cadeia de consumo: Retrospecto de 2022**. ABRE - Associação Brasileira de Embalagem, 2023. Disponível em: <<https://www.abre.org.br/dados-do-setor/2022-2/>>. Acesso em: 16 mar. 2024
- ALMEIDA, J. M. et al. Antimicrobial action of Oregano, Thyme, Clove, Cinnamon and Black pepper essential oils free and encapsulated against foodborne pathogens. **Food Control**, v. 144, p. 109356, 1 fev. 2023.
- AMARAWEEERA, S. M. et al. Development of Starch-Based Materials Using Current Modification Techniques and Their Applications: A Review. **Molecules**, v. 26, n. 22, p. 6880, jan. 2021.
- ANDRADE-OCHOA, S. et al. Differential Antimicrobial Effect of Essential Oils and Their Main Components: Insights Based on the Cell Membrane and External Structure. **Membranes**, v. 11, n. 6, p. 405, 28 maio 2021.
- ANSARIFAR, E.; MORADINEZHAD, F. Encapsulation of thyme essential oil using electrospun zein fiber for strawberry preservation. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 9, n. 1, p. 2, 13 jan. 2022.
- ASTM D 1746. **Standard Test Method for Transparency of Plastic Sheeting**. , 2015. Disponível em: <<https://www.astm.org/d1746-15.html>>. Acesso em: 21 mar. 2024
- ASTM-D882. **Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting**. , 2018. Disponível em: <<https://www.astm.org/d0882-18.html>>
- ASTM-E96-00. **Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials**. , 2017. Disponível em: <<https://www.astm.org/e0096-00.html>>
- ASTM-E573-01. **Standard practices for internal reflection spectroscopy**. , 2021. Disponível em: <<https://www.astm.org/e0573-01r21.html>>
- ASTM-E1252-98. **Standard practice for general techniques for obtaining infrared spectra for qualitative analysis**. , 2021. Disponível em: <<https://www.astm.org/e1252-98r21.html>>
- ASTM-E2149. **Standard test method for determining the antimicrobial activity of antimicrobial agents under dynamic contact conditions**. , 2020. Disponível em: <<https://www.astm.org/e2149-20.html>>
- BANGAR, S. P. et al. Functionality and Applicability of Starch-Based Films: An Eco-Friendly Approach. **Foods**, v. 10, n. 9, p. 2181, set. 2021.
- BASAVEGOWDA, N.; BAEK, K.-H. Synergistic Antioxidant and Antibacterial Advantages of Essential Oils for Food Packaging Applications. **Biomolecules**, v. 11, n. 9, p. 1267, 2 set. 2021.

BECERRIL, R.; NERÍN, C.; SILVA, F. **Encapsulation systems for antimicrobial food packaging components: An update.** *Molecules* MDPI AG, , 3 mar. 2020.

BOUTAKIOUT, A. et al. Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oil and Phytochemical Screening of Extracts of Aerial Parts of *Thymus atlanticus*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 25, n. 2, p. 356–368, 4 mar. 2022.

CAETANO, K. DOS S. et al. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 138–147, 1 jun. 2018.

CAI, C. et al. Effect of starch film containing thyme essential oil microcapsules on physicochemical activity of mango. **LWT**, v. 131, p. 109700, 1 set. 2020.

CARPENA, M. et al. Essential Oils and Their Application on Active Packaging Systems: A Review. **Resources**, v. 10, n. 1, p. 7, jan. 2021.

CHENG, M. et al. Effect of dual-modified cassava starches on intelligent packaging films containing red cabbage extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 124, p. 107225, mar. 2022.

COLIVET, J.; CARVALHO, R. A. Hydrophilicity and physicochemical properties of chemically modified cassava starch films. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 599–607, 1 jan. 2017.

CONSTANTINO, A. B. T.; GARCIA-ROJAS, E. E. Microencapsulation of betanin by complex coacervation of carboxymethylcellulose and amaranth protein isolate for application in edible gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v. 133, p. 107956, 1 dez. 2022.

FERNANDES, B. C. N. et al. Prospection of the use of encapsulation in food packaging. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 3, p. 2309–2334, 2022.

GALINDO, M. V. et al. Atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes comestíveis de gelatina e quitosana adicionados de óleos essenciais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, p. e019008–e019008, 20 mar. 2019.

GALOVIČOVÁ, L. et al. Thymus serpyllum Essential Oil and Its Biological Activity as a Modern Food Preserver. **Plants (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 7, p. 1416, 11 jul. 2021.

GHOSHAL, G.; SHIVANI. Thyme essential oil nano-emulsion/Tamarind starch/Whey protein concentrate novel edible films for tomato packaging. **Food Control**, v. 138, p. 108990, 1 ago. 2022.

GONÇALVES, N. D. et al. Encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil used as a natural preservative in bakery product. **Food Research International**, v. 96, p. 154–160, jun. 2017.

GUIMARÃES, M. C. et al. Effect of microencapsulated Thyme (*thymus vulgaris*) essential oil on the antimicrobial and physicochemical properties of starch food packaging. 2024.

GUO, Q. et al. Formulation and characterization of microcapsules encapsulating carvacrol using complex coacervation crosslinked with tannic acid. **LWT**, v. 165, p. 113683, 1 ago. 2022.

HE, Q. et al. Antibacterial mechanisms of thyme essential oil nanoemulsions against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus*: Alterations in membrane compositions and characteristics. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 75, p. 20, jan. 2022.

HERNÁNDEZ, M. S.; LUDUEÑA, L. N.; FLORES, S. K. Citric acid, chitosan and oregano essential oil impact on physical and antimicrobial properties of cassava starch films. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 5, p. 100307, 1 jun. 2023.

LESCANO, C. H. et al. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Oil Microencapsulation by Complex Coacervation: Preservation of Bioactive Compounds. **Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences**, v. 4, n. 4, p. 105–113, 7 nov. 2014.

LIU, X.; XUE, F.; ADHIKARI, B. Encapsulation of essential oils using hemp protein isolate–gum Arabic complex coacervates and evaluation of the capsules. **Sustainable Food Technology**, v. 1, n. 3, p. 426–436, 1 jun. 2023.

LUCHESI, C. L.; RODRIGUES, R. B.; TESSARO, I. C. Cassava starch-processing residue utilization for packaging development. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 2238–2247, jul. 2021.

MAJEED, T. et al. Role of additives in starch-based edible films and coating: A review with current knowledge. **Progress in Organic Coatings**, v. 181, p. 107597, 1 ago. 2023.

MARANGONI JÚNIOR, L. et al. Effect of green propolis extract on functional properties of active pectin-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 131, p. 107746, out. 2022.

MATHEUS, J. R. V. et al. Biopolymers as green-based food packaging materials: A focus on modified and unmodified starch-based films. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 22, n. 2, p. 1148–1183, 2023.

MOREIRA, M. N. DE L.; MOREIRA, F. K. V.; PRATA, A. S. Effect of adding micronized eggshell waste particles on the properties of biodegradable pectin/starch films. **Journal of Cleaner Production**, v. 434, p. 140229, 1 jan. 2024.

MUKURUMBIRA, A. R. et al. Encapsulation of essential oils and their application in antimicrobial active packaging. **Food Control**, v. 136, p. 108883, jun. 2022.

NARVÁEZ-GÓMEZ, G. et al. Development and characterization of dual-modified yam (*Dioscorea rotundata*) starch-based films. **Heliyon**, v. 7, n. 4, p. e06644, 1 abr. 2021.

NASCIMENTO, R. F. et al. The formation of solid bridges during agglomeration in a fluidized bed: Investigation by Raman spectroscopy and image analyses. **Powder Technology**, v. 420, p. 118377, 15 abr. 2023.

NATIONAL GEOGRAPHIC BRASIL. **Alerta ambiental: é assim que o lixo plástico ameaça a fauna**. Disponível em: <<https://www.nationalgeographicbrasil.com/meio->

ambiente/2023/06/alerta-ambiental-e-assim-que-o-lixo-plastico-ameaca-a-fauna>.
Acesso em: 16 mar. 2024.

OJOGBO, E.; OGUNSONA, E. O.; MEKONNEN, T. H. Chemical and physical modifications of starch for renewable polymeric materials. **Materials Today Sustainability**, v. 7–8, p. 100028, 1 mar. 2020.

OLUWASINA, O. O. et al. Influence of oxidized starch on physicochemical, thermal properties, and atomic force micrographs of cassava starch bioplastic film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 282–293, 2019.

PEIXOTO, E. C. et al. Antimicrobial active packaging for meat using thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) encapsulated on zein ultrafine fibers membranes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 51, p. 102778, 1 ago. 2023.

POSGAY, M. et al. Effect of *Thymus vulgaris* L. essential oil and thymol on the microbiological properties of meat and meat products: A review. **Heliyon**, v. 8, n. 10, p. e10812, 1 out. 2022.

PRATA, A. S.; GROSSO, C. R. F. Influence of the Oil Phase on the Microencapsulation by Complex Coacervation. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 92, n. 7, p. 1063–1072, jul. 2015.

RODRIGUES, G. DE M. et al. Antimicrobial Activity and GC-MS Profile of Copaiba Oil for Incorporation into Xanthosoma mafaffa Schott Starch-Based Films. **Polymers**, v. 12, n. 12, p. 2883, dez. 2020.

RUFINO, M. DO S. M. et al. **Metodologia Científica:Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)**. Fortaleza, CEEMBRAPA, , 2006. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/11964/1/cot-125.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2024

RUFINO, M. DO S. M. et al. **Metodologia Científica:Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS+**. Fortaleza, CEEMBRAPA, , 2007. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT/10225/1/Cot_128.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2024

SAPPER, M.; CHIRALT, A. Starch-Based Coatings for Preservation of Fruits and Vegetables. **Coatings**, v. 8, n. 5, p. 152, maio 2018.

SILVIA, R.-C. et al. Modification of banana starch (*Musa paradisiaca* L.) with polyethylene terephthalate: Virgin and bottle waste. **Carbohydrate Research**, v. 508, p. 108401, 1 out. 2021.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1 jan. 1965.

VEDOVE, T. M. A. R. D.; MANIGLIA, B. C.; TADINI, C. C. Production of sustainable smart packaging based on cassava starch and anthocyanin by an extrusion process. **Journal of Food Engineering**, v. 289, p. 110274, 1 jan. 2021.

VIANNA, T. C. et al. Essential oils as additives in active starch-based food packaging films: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 182, p. 1803–1819, jul. 2021.

VICENTINO, S. L. et al. Filmes de amidos de mandioca modificados para recobrimento e conservação de uvas. **Química Nova**, v. 34, p. 1309–1314, 2011.

WANG, H.-H. et al. Preparation and Characterization of Ginger Essential Oil Microcapsule Composite Films. **Foods**, v. 10, n. 10, p. 2268, out. 2021.

WANG, X. et al. Research advances in chemical modifications of starch for hydrophobicity and its applications: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 240, p. 116292, jul. 2020.

WANG, Y. et al. Preparation and Characterization of Corn Starch Bio-Active Edible Packaging Films Based on Zein Incorporated with Orange-Peel Oil. **Antioxidants**, v. 8, n. 9, p. 391, set. 2019.

WANG, Z. et al. Cassava starch: Chemical modification and its impact on functional properties and digestibility, a review. **Food Hydrocolloids**, v. 129, p. 107542, ago. 2022.

ZHANG, J. et al. Preparation of bio-based modified starch film and analysis of preservation mechanism for sweet cherry. **Food Chemistry: X**, v. 16, p. 100490, 30 dez. 2022.

ZHANG, Y. et al. Preparation and characterization of curdlan/polyvinyl alcohol/ thyme essential oil blending film and its application to chilled meat preservation. **Carbohydrate Polymers**, v. 247, p. 116670, 1 nov. 2020.

ZHANG, Y. et al. Microcapsules of a cinnamon, peppermint, and lemon essential oil mix by spray drying: Preparation, characterization and antibacterial functions. **Food Hydrocolloids**, v. 145, p. 109103, 1 dez. 2023.

ZHOU, Y. et al. Effects of cinnamon essential oil on the physical, mechanical, structural and thermal properties of cassava starch-based edible films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 184, p. 574–583, 1 ago. 2021.

CONCLUSÃO GERAL

Os avanços em embalagens à base de amido modificado estão abrindo caminhos para soluções inovadoras, sustentáveis e adaptáveis às necessidades específicas da indústria alimentícia e de embalagens. O compromisso contínuo com a pesquisa e desenvolvimento nesse campo é essencial para impulsionar a evolução e a adoção generalizada das tecnologias emergentes.

Neste estudo, verificou-se que a associação da modificação do amido com a incorporação de micropartículas de OET melhorou a resistência mecânica, estabilidade térmica e de barreira ao vapor d'água dos filmes. Essas melhorias permitem que os filmes neutros e oxidados ativos com micropartículas garantam uma barreira eficaz contra a umidade e ajudem a regular a troca de gases, preservando o frescor de produtos como panificados, confeitados, cereais, snacks e produtos de origem animal. O filme eterificado, apesar de sua alta solubilidade, demonstrou excelente resistência mecânica e estabilidade térmica, sugerindo sua aplicação como embalagem solúvel.

A microencapsulação via coacervação complexa integrou melhor o óleo essencial na matriz polimérica dos filmes, resultando em uma atividade antimicrobiana e antioxidante mais eficiente. Logo, os amidos de mandioca modificados, reforçados com micropartículas de OET, emergem como embalagens ativas viáveis para diversos alimentos, preservando-os por mais tempo e garantindo a segurança alimentar de forma natural.

Sugere-se para trabalhos futuros, análise da biodegradabilidade dos materiais, análise da validade quanto ao armazenamento dos filmes, além de estudos de aplicação dos filmes em alimentos. Investigação quanto a liberação controlada do óleo essencial também se faz necessária e está em andamento.

Sendo assim, conclui-se que o uso de materiais biodegradáveis como os amidos de mandioca modificados reforçados com micropartículas de OET emergem como viáveis embalagens ativas que podem ser aplicadas em uma variedade de alimentos que requerem embalagens com propriedades específicas. Podendo preservá-los por mais tempo e garantir a segurança alimentar de forma natural, contribuindo para uma economia mais sustentável e resiliente.

REFERÊNCIAS

- BASTOS, L. P. H. et al. Complex coacervates of β -lactoglobulin/sodium alginate for the microencapsulation of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil: Simulated gastrointestinal conditions and modeling release kinetics. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 861–870, 2020.
- BECERRIL, R.; NERÍN, C.; SILVA, F. **Encapsulation systems for antimicrobial food packaging components: An update**. *Molecules* MDPI AG, , 3 mar. 2020.
- CAZÓN, P. et al. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136–148, 2017.
- ESCOBAR, A. et al. **Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications**. *Arabian Journal of Chemistry* Elsevier B.V., , 1 dez. 2020.
- GONÇALVES, N. D. et al. Encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil used as a natural preservative in bakery product. **Food Research International**, v. 96, n. March, p. 154–160, 2017.
- LIN, L.; ZHU, Y.; CUI, H. Electrospun thyme essential oil/gelatin nanofibers for active packaging against *Campylobacter jejuni* in chicken. **LWT**, v. 97, p. 711–718, 1 nov. 2018.
- LIU, D. et al. Recent Advances and Applications in Starch for Intelligent Active Food Packaging: A Review. **Foods**, v. 11, n. 18, p. 2879, jan. 2022.
- MATHEUS, J. R. V. et al. Biopolymers as green-based food packaging materials: A focus on modified and unmodified starch-based films. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 22, n. 2, p. 1148–1183, 2023.
- NCUBE, L. K. et al. Environmental Impact of Food Packaging Materials: A Review of Contemporary Development from Conventional Plastics to Polylactic Acid Based Materials. **Materials**, v. 13, n. 21, p. 4994, jan. 2020.
- PISOSCHI, A. M. et al. Nanoencapsulation techniques for compounds and products with antioxidant and antimicrobial activity - A critical view. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 1326–1345, 2018.
- POTRC, S. et al. Development of Biodegradable Whey-Based Laminate Functionalised by Chitosan – Natural Extract Formulations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3668, p. 1–19, 2020.
- VIANNA, T. C. et al. Essential oils as additives in active starch-based food packaging films: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 182, p. 1803–1819, jul. 2021.
- YONG, H.; LIU, J. Recent advances in the preparation, physical and functional properties, and applications of anthocyanins-based active and intelligent packaging films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 26, p. 1–15, 2020.

ZHANG, H.; LI, X.; KANG, H. Chitosan coatings incorporated with free or nano-encapsulated Paulownia Tomentosa essential oil to improve shelf-life of ready-to-cook pork chops. **LWT**, v. 116, 1 dez. 2019.

ANEXO A

Analitos identificados no óleo essencial de tomilho (*T. vulgaris*).

tR (min)	IR (a)	Identificação	% rel. (b)
5,7	923	Tricicleno	0,32
5,98	933	alfa-pineno	2,8
6,39	948	Canfeno	1,78
7,17	977	beta-pineno	0,92
7,54	991	beta-mirceno	0,44
8,71	1026	para-cimeno*	15,51
8,83	1029	limoneno*	7,14
9,85	1058	gama-terpineno	0,61
10,96	1089	terpinoleno	0,13
11,4	1101	linalol	0,39
13,24	1146	cânfora	2,05
13,7	1157	isoborneol	0,2
14,08	1167	borneol	0,32
15,19	1194	alfa-terpineol	0,28
19,13	1287	acetato de isobornila	0,44
19,39	1293	M = 196 ©	2,22
19,76	1302	Timol*	53,57
20,03	1308	Carvacrol*	6,93
21,95	1354	n.i. (d)	0,41
24,66	1420	trans-cariofileno	3,26
32,68	1625	M = 208	0,28

Notas: a) índice de retenção; b) fração em % da área total integrada para o cromatograma; c) massa molar; d) n.i. – não identificado; * fenóis monoterpênicos isoméricos.

Fonte: (Gonçalves et al. 2017)