

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO  
GRANDE DO SUL

JÚLIA POSTAY

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE INCORPORAÇÃO DE ÓLEO  
ESSENCIAL DE MELALEUCA NAS PROPRIEDADES FÍSICAS, TÉRMICAS E  
ANTIMICROBIANAS DE FILMES DE AMIDO DE MILHO**

Feliz  
2026

JÚLIA POSTAY

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE INCORPORAÇÃO DE ÓLEO  
ESSENCIAL DE MELALEUCA NAS PROPRIEDADES FÍSICAS, TÉRMICAS E  
ANTIMICROBIANAS DE FILMES DE AMIDO DE MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Engenharia de Materiais como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre Profissional em Tecnologia e Engenharia de Materiais.

Área de Concentração: Tecnologia e Engenharia de Materiais

Linha de Pesquisa: Materiais poliméricos

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daiane Romanzini

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cleide Borsoi

FELIZ

2026

## CIP - Catalogação na publicação

Postay, Júlia

Influência de diferentes métodos de incorporação de óleo essencial de melaleuca nas propriedades físicas, térmicas e antimicrobianas de filmes de amido de milho / Júlia Postay. -- 2026.

80 f.

Orientadora: Daiane Romanzini.

Coorientadora: Cleide Borsoi.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Campus Feliz, Mestrado Profissional em Tecnologia e Engenharia de Materiais - PPGTEM, Feliz, BR-RS, 2026.

1. Filmes Poliméricos Com Óleo Essencial. 2. Embalagens ativas. I. Romanzini, Daiane. II. Borsoi, Cleide. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha  
Catalográfica do SIBIFRS com dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**JÚLIA POSTAY**

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE INCORPORAÇÃO DE ÓLEO  
ESSENCIAL DE MELALEUCA NAS PROPRIEDADES FÍSICAS, TÉRMICAS E  
ANTIMICROBIANAS DE FILMES DE AMIDO DE MILHO**

Trabalho Final apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Engenharia de Materiais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre Profissional em Tecnologia e Engenharia de Materiais.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. André Luis Catto – SENAI

---

Prof. Dr. Edson Luiz Francisquetti – IFRS Campus Farroupilha

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Janete Werle de Camargo Liberatori – IFRS Campus Feliz

---

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cleide Borsoi - Univates

---

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daiane Romanzini – IFRS Campus Feliz

Apresentado e aprovado em: 12 de março de 2026.

Local da defesa: Feliz (on-line)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esta dissertação à minha filha Celine e ao meu esposo Evandro, pelo amor, apoio e força ao longo dessa jornada. A ele que sempre esteve ao meu lado me apoiando, sendo companheiro na estrada para as aulas em outros campi, mesmo nos dias mais difíceis. Obrigada por cada gesto de carinho. Esta conquista é dedicada a você, como forma de amor e gratidão.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade concedida, pela determinação para ter chegado até aqui e por não me deixar desistir diante das dificuldades.

À minha orientadora, professora doutora Daiane Romanzini, e à minha coorientadora, professora doutora Cleide Borsoi, pelas orientações, disponibilidade, dedicação, empenho e acompanhamento ao longo desta trajetória.

Ao meu esposo, Evandro Ströher, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, oferecendo apoio e compreensão pelo tempo dedicado a este estudo. Além de ser meu fiel companheiro nas viagens às aulas nos campi de Farroupilha e Caxias.

Ao professor doutor Édson Luiz Francisquetti, do Instituto Federal do Rio Grande do Sul – Campus Farroupilha, pela realização das análises termogravimétricas (TGA) e da espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). À professora mestra Eliana Della Coletta Yudice do Instituto Adolfo Lutz de Santo André – SP, pela realização das análises de concentração mínima inibitória (CIM), concentração bactericida mínima (CBM) e microbiológica.

As colegas de pesquisa, Gabriela Pozzebon, Julia Casagrande da Silva e Julia Welter, pela parceria e trocas de ideias.

Ao Instituto Federal do Rio Grande do Sul campus Feliz pela oportunidade e ao campus Farroupilha pela realização das análises.

Aos professores que me capacitaram para a realização desta pesquisa, em especial aos membros da banca examinadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Daiane Romanzini, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cleide Borsoi, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Janete Werle de Camargo Liberatori, Prof. Dr. Édson Luiz Francisquetti, Prof. Dr. André Luis Catto.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, muito obrigada!

*“A vida não é fácil para nenhum de nós, mas isso não importa. O que importa é perseverar e, acima de tudo, ter confiança em si mesmo. É preciso ter confiança para fazer algo e alcançar os objetivos, custe o que custar.”*

*Marie Curie*

## RESUMO

Filmes poliméricos à base de amido, plastificantes e óleos essenciais constituem uma alternativa de embalagem ativa, apresentando propriedades antimicrobianas. Entretanto, a incorporação dos óleos essenciais torna-se desafiadora pela sua volatilidade. O óleo essencial de melaleuca foi escolhido por ser pouco utilizado em filmes de amido. Portanto, o objetivo deste trabalho consiste em avaliar duas metodologias distintas na incorporação do óleo essencial de melaleuca, analisando as propriedades físicas, térmicas e antimicrobianas dos filmes obtidos. Foram desenvolvidos filmes de amido de milho pelo método de *casting*, utilizando-se glicerol e sorbitol como plastificantes. Avaliaram-se duas metodologias para incorporação do óleo essencial de melaleuca nas concentrações de 2 e 4% em massa. Na metodologia A, o amido foi moído antes da incorporação do óleo, enquanto na metodologia B, adicionou-se o surfactante tween 80 juntamente ao óleo essencial. Inicialmente foi realizada a análise da concentração mínima inibitória (CIM) e bactericida mínima (CBM), além do teor de amilose do amido. Na sequência, os filmes foram caracterizados quanto à espessura, umidade, absorção de água, solubilidade, análise termogravimétrica e espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (FTIR). A CIM e a CBM do óleo essencial de melaleuca foram de 0,39% e 0,78%, respectivamente, tanto para *Salmonella* quanto para *Escherichia coli*. Para *Staphylococcus aureus* não houve inibição. Contudo, quando incorporado aos filmes, o óleo essencial não apresentou atividade inibitória contra as bactérias testadas. Os filmes apresentaram espessura entre 0,15 mm e 0,20 mm, teor de umidade de 15,35% a 18,21%, absorção de água entre 52,20% e 77,47% e solubilidade em água de 18,88% a 21,86%. Os filmes com maior percentual de óleo essencial, na metodologia A, apresentam melhores propriedades físicas, maior estabilidade térmica e maior temperatura de degradação, com melhor distribuição homogênea do óleo na matriz polimérica, conforme FTIR. Assim, concluiu-se que a incorporação de óleo essencial de melaleuca melhorou as propriedades físicas, químicas e térmicas dos filmes. A metodologia A mostrou-se mais promissora, destacando-se o filme FA\_MetA\_OE4, embora necessite de alguns ajustes para otimizar a atividade antimicrobiana.

**Palavras-chave:** Embalagens ativas. Óleo essencial. Óleo essencial de melaleuca. Amido.

## ABSTRACT

Polymeric films based on starch, plasticizers, and essential oils constitute an active packaging alternative, exhibiting antimicrobial properties. However, the incorporation of essential oils becomes challenging due to their volatility. Melaleuca essential oil was chosen because it is rarely used in starch films. Therefore, the objective of this work is to evaluate two distinct methodologies for incorporating melaleuca essential oil, analyzing the physical, thermal, and antimicrobial properties of the resulting films. Corn starch films were developed using the casting method, employing glycerol and sorbitol as plasticizers. Two methodologies for incorporating melaleuca essential oil at concentrations of 2% and 4% by mass were evaluated. In methodology A, the starch was ground before incorporating the oil, while in methodology B, the surfactant tween 80 was added along with the essential oil. Initially, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC), as well as the amylose content of the starch, were analyzed. Subsequently, the films were characterized in terms of thickness, moisture content, water absorption, solubility, thermogravimetric analysis, and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The MIC and MBC of melaleuca essential oil were 0.39% and 0.78%, respectively, for both *Salmonella* and *Escherichia coli*. No inhibition was observed for *Staphylococcus aureus*. However, when incorporated into the films, the essential oil did not show inhibitory activity against the tested bacteria. The films had a thickness between 0.15 mm and 0.20 mm, a moisture content of 15.35% to 18.21%, water absorption between 52.20% and 77.47%, and water solubility of 18.88% to 21.86%. Films with a higher percentage of essential oil, in methodology A, exhibit better physical properties, greater thermal stability, and a higher degradation temperature, with better homogeneous distribution of the oil in the polymeric matrix, according to FTIR. Thus, it was concluded that the incorporation of melaleuca essential oil improved the physical, chemical, and thermal properties of the films. Methodology A proved to be more promising, with the FA\_MetA\_OE4 film standing out, although it needs some adjustments to optimize antimicrobial activity.

**Keywords:** Active packaging. Essential oil. Melaleuca essential oil. Starch.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Microscopia eletrônica de vários tipos de amido.....	17
Figura 2 – A estrutura da amilose (a) e amilopectina (b).....	19
Figura 3 – Estrutura molecular do glicerol e sorbitol.....	21
Figura 4 – Planta de melaleuca.....	22
Figura 5 – Principais componentes do óleo essencial de melaleuca.....	23
Figura 6 – Esquema representativo das etapas envolvidas para a caracterização do óleo essencial e amido de milho e para a preparação e caracterização dos filmes.....	27
Figura 7 – Imagem ilustrativa de um filme produzido no teor de 6% de óleo de melaleuca estudado (calculado em base seca de amido).....	31
Figura 8 – Fluxograma da preparação do filme utilizando a metodologia A.....	32
Figura 9 – Fluxograma da preparação do filme utilizando a metodologia B.....	33
Figura 10 – CIM e CBM do óleo melaleuca para <i>Salmonella</i> .....	37
Figura 11 – CIM e CBM do óleo melaleuca para <i>E. coli</i> .....	37
Figura 12 – CIM e CBM do óleo melaleuca para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	37
Figura 13 – Aspecto visual dos filmes da metodologia A.....	40
Figura 14 – Aspecto visual dos filmes da metodologia B.....	40
Figura 15 – Umidade dos filmes preparados a partir da (a) metodologia A e (b) metodologia B.....	43
Figura 16 – Absorção de água para os filmes preparados a partir da (a) metodologia A e (b) metodologia B.....	44
Figura 17 – Solubilidade para os filmes preparados a partir da (a) metodologia A e (b) metodologia B.....	45
Figura 18 – TGA dos filmes preparados a partir da (a) metodologia A e (b) metodologia B.....	47
Figura 19 – FTIR dos filmes preparados a partir da (a) metodologia A e (b) metodologia B.....	49
Figura 20 – FTIR aproximado da metodologia A.....	51
Figura 21 – FTIR aproximado da metodologia B.....	52
Figura 22 – FTIR do filme (a) FA_MetA_OE0, (b) FA_MetA_OE2 e (c) FA_MetA_OE4.....	53
Figura 23 – FTIR do filme (a) FA_MetB_OE0, (b) FA_MetB_tw_OE2 e (c) FA_MetB_tw_OE4.....	54
Figura 24 – Resultados da análise microbiológica.....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química do óleo essencial melaleuca por cromatografia.....	26
Tabela 2 – Concentração do OEM em cada poço para determinação de CIM e CBM.....	28
Tabela 3 – Denominação e formulação dos filmes estudados .....	30
Tabela 4 – CIM e CBM do óleo essencial de melaleuca com as bactérias <i>Salmonella</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> .....	36
Tabela 5 – Teor de amilose .....	38
Tabela 6 – Espessura dos filmes .....	39
Tabela 7 – Dados extraídos das curvas de TGA e DTG .....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS

CBM	–	concentração bactericida mínima
CIM	–	concentração inibitória mínima
FTIR	–	espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
GC-MS	–	cromatografia gasosa – espectroscopia de massa
ISO	–	<i>International Organization for Standardization</i>
OE	–	óleo essencial
OEM	–	óleo essencial de melaleuca
TGA	–	análise termogravimétrica
TPS	–	<i>Thermoplastic starch</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>1.2 OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
1.2.1 Objetivo geral .....	14
1.2.2 Objetivos específicos.....	14
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
2.1 EMBALAGENS ATIVAS .....	15
2.2 AMIDO.....	17
2.3 ÓLEO ESSENCIAL .....	21
2.3.1 Óleo essencial de Melaleuca.....	22
2.4 FILMES POLIMÉRICOS DE AMIDO COM ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA.....	25
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>26</b>
3.1 MATERIAIS .....	26
3.2 MÉTODOS .....	27
3.2.1 Caracterização do óleo essencial de melaleuca: concentração mínima inibitória (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) .....	28
3.2.2 Caracterização do teor de amilose do amido .....	29
3.2.3 Preparação dos filmes.....	29
3.2.3.1 Preparação dos filmes usando a metodologia A.....	31
3.2.3.2 Preparação dos filmes usando a metodologia B.....	32
3.2.4 Caracterização dos filmes .....	34
3.2.4.1 Espessura e aspecto visual.....	34
3.2.4.2 Teor de umidade .....	34
3.2.4.3 Absorção de água .....	34
3.2.4.4 Solubilidade em água .....	34
3.2.4.5 Análise termogravimétrica (TGA).....	35
3.2.4.6 Espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (FTIR).....	35
3.2.4.7 Caracterização microbiológica.....	35
3.2.4.8 Análise estatística.....	35

<b>4 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
4.1 Caracterização do óleo essencial de melaleuca: concentração mínima inibitória (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM).....	36
4.2 Caracterização do teor de amilose.....	38
4.3 Caracterização dos filmes.....	38
<b>4.3.1 Espessura e aspecto visual.....</b>	<b>38</b>
<b>4.3.2 Teor de umidade.....</b>	<b>41</b>
<b>4.3.3 Absorção de água .....</b>	<b>43</b>
<b>4.3.4 Solubilidade em água.....</b>	<b>45</b>
<b>4.3.5 Análise termogravimétrica (TGA).....</b>	<b>46</b>
<b>4.3.6 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....</b>	<b>48</b>
<b>4.3.7 Caracterização microbiológica.....</b>	<b>55</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>58</b>
5.1 Contribuição do trabalho.....	59
5.2 Possibilidade de trabalhos futuros.....	59
REFERÊNCIAS .....	60

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o descarte inadequado de resíduos poliméricos está crescendo cada vez mais, prejudicando o meio ambiente. Estima-se que o mundo irá produzir cerca de 619 milhões de toneladas de materiais poliméricos no ano de 2030 (Mulhen, 2023). Esses materiais, de origem petroquímica e não biodegradáveis, dominam a indústria de embalagens, sendo responsáveis por 85% do lixo marinho. Visando reduzir o impacto do descarte incorreto de plásticos não biodegradáveis, a fim de diminuir a poluição, propõe-se, como alternativa, a utilização de embalagens plásticas feitas de biopolímeros (Silva *et al.*, 2024).

Biopolímeros são polímeros produzidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis (Kaur *et al.*, 2024). Os materiais originados da cana-de-açúcar e do amido de milho são classificados como biopolímeros devido à sua origem natural. Biopolímeros formados por amido de milho, em especial, apresentam adequadas condições para substituir os plásticos tradicionais (Blume *et al.*, 2023), com propriedades como inodoros, transparentes, insípidos e com barreira aos gases oxigênio e carbônico (Bashir *et al.*, 2023). Conforme Luchese (2018), o amido destaca-se pela utilização em embalagens por ser uma matéria-prima comestível, não tóxica, abundante e de custo acessível. As espessuras desses filmes podem variar entre 0,025 mm a 0,125 mm. Características importantes para os filmes são o alto grau de flexibilidade, elevados limites de resistência à tração, ao rasgamento, ao ataque à umidade e baixa permeabilidade à água (Callister, 2016).

Pensando na qualidade de vida e no consumo de alimentos mais saudáveis, a indústria de alimentos tem buscado alternativas para diminuir a produção de embalagens com aditivos sintéticos. Uma das soluções é a utilização de embalagens ativas substituindo as tradicionais (Grassi *et al.*, 2020; Souza *et al.*, 2020). O foco desses materiais está na utilização de matérias-primas com substâncias de origem vegetal. Geralmente esses princípios ativos auxiliam nas funções de aromatizar e conservar, além de fornecerem propriedades antioxidantes e antimicrobianas (Chen, *et al.*, 2022).

De acordo com Liu *et al.* (2023), os óleos essenciais são substâncias orgânicas naturais voláteis, extraídas de plantas aromáticas. Esses compostos possuem atividades antioxidantes e antimicrobianas, e quando são incorporados à formulação

das embalagens, ajudam na prevenção do ataque microbiano em produtos frescos e possuem a capacidade de inibir a atividade de organismos patogênicos (Poongavanam *et al.*, 2023). Segundo Chen *et al.* (2020), o óleo essencial (OE) pode ser adicionado à matriz do filme, sendo liberado durante o armazenamento e transporte dos alimentos, contribuindo para a redução da deterioração e para prolongamento da vida útil do alimento.

Os óleos essenciais são substâncias voláteis, geralmente aromáticas, incolores e líquidas, constituídas por compostos naturais que podem ser encontradas em diferentes partes das plantas, tais como sementes, flores e cascas (Hou *et al.*, 2022). O óleo essencial de melaleuca (OEM) foi escolhido por apresentar poucos estudos em filmes funcionais para embalagens alimentares, apesar de suas propriedades antimicrobianas serem conhecidas (Jamróz *et al.*, 2018). De acordo com Ferreira *et al.* (2022), o óleo essencial de melaleuca é extraído das folhas de *tea tree* por destilação a vapor e utilizado nas embalagens, devido às suas propriedades antioxidantes e reduzidos valores de concentração mínima inibitória. Lee *et al.* (2020) descrevem que o óleo essencial de melaleuca possui alto teor de terpenos, cuja substância volátil destrói a parede celular das bactérias, apresentando ótimas propriedades antifúngicas. O óleo essencial de melaleuca possui alta hidrofobicidade, volatilidade e sensibilidade à oxidação, entretanto possui dificuldade para formar a emulsão de maneira direta. Nesse contexto, a emulsão do óleo essencial de melaleuca em uma embalagem ativa é uma forma de solucionar o problema das embalagens tradicionais (Shah *et al.*, 2021).

Os óleos essenciais são voláteis em ambientes de altas temperaturas. Entretanto, na combinação do óleo essencial com o amido, esse comportamento pode ser distinto. Por isso a introdução do óleo em diferentes estágios na preparação do filme pode influenciar a dispersão e retenção, afetando assim a liberação e a atividade antimicrobiana (Chen *et al.*, 2025). Pozzebon (2024) incorporou o óleo essencial no amido por meio da técnica de cisalhamento, obtendo filmes com adequada homogeneidade. Por outro lado, Liu *et al.* (2023) utilizaram o tween 80 como surfactante na preparação da emulsão do óleo essencial, para melhorar a dispersão e obter um filme mais homogêneo. Desta forma, este estudo objetiva investigar o uso de diferentes metodologias e concentrações de óleo essencial de melaleuca e analisar o efeito nas suas propriedades físicas, químicas, térmicas e antimicrobianas.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

Analisar a influência de duas metodologias de incorporação do óleo essencial em filmes poliméricos à base de amido de milho e utilizando diferentes teores de óleo essencial de melaleuca nas propriedades físicas, químicas, térmicas e antimicrobianas.

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Determinar a concentração mínima inibitória (CIM) e a concentração mínima bactericida (CBM) do óleo essencial de melaleuca;
- Comparar duas metodologias para incorporação do óleo essencial de melaleuca, na concentração de 2 e de 4% em massa, em base seca de amido, quanto às propriedades físicas, térmicas (TGA), químicas (FTIR) e microbiológicas.
- Avaliar a influência do uso de tween 80 e do teor de óleo essencial nos filmes poliméricos sobre o teor de umidade, na absorção de água, na solubilidade, espessura, análise microbiológica, TGA e FTIR.
- Analisar as propriedades antimicrobianas para as bactérias *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dos filmes preparados em diferentes concentrações e metodologias.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 EMBALAGENS ATIVAS

A grande quantidade de embalagens plásticas derivadas de petróleo produzidas no ramo alimentício vem causando diversos problemas relacionados ao descarte inadequado desses materiais. Alguns países começaram a reduzir e até mesmo proibir o uso de plásticos não degradáveis e de uso único, incentivando assim o desenvolvimento e a utilização de embalagens oriundas de polímeros naturais, como as embalagens ativas (Liu *et al.*, 2023).

O termo 'embalagem ativa' é utilizado para classificar as embalagens que atuam na preservação de alimentos (Almada *et al.*, 2022). Elas fazem parte de um novo conceito devido à interação positiva entre alimento, embalagem e ambiente, a fim de melhorar e/ou preservar a vida de prateleira (*shelf life*) do produto, mantendo sua qualidade, segurança e aspectos sensoriais. O termo também está relacionado à tecnologia empregada na incorporação intencional de alguns componentes em embalagens que absorvem ou liberam aditivos em seu interior ou incorporados ao material da própria embalagem (Landim *et al.*, 2016; Severo *et al.*, 2021; Yildirim *et al.*, 2018).

Alguns fatores importantes para desenvolver embalagens ativas estão relacionados às características bioquímicas do alimento, às características inertes do componente bioativo, à interação química entre a matriz do polímero e os componentes bioativos e à temperatura de armazenamento do produto (Mishra *et al.*, 2021). De acordo com Souza *et al.* (2020) a embalagem ativa é uma maneira interessante de aumentar a vida útil dos alimentos sem a adição direta de aditivos, por exemplo, por meio de sua ação antimicrobiana.

As embalagens que funcionam como sistemas de liberação são separadas em sistemas de lixiviação e sistemas voláteis. Nos sistemas voláteis, a liberação acontece por meio da difusão do agente ativo a partir da embalagem até a estrutura dos alimentos; por isso os agentes ativos necessitam de características voláteis. Podem-se destacar os óleos essenciais e compostos bioativos, de pequeno peso molecular (Almasi *et al.*, 2020).

Vários estudos reportam o uso de embalagens ativas com óleos essenciais no ramo alimentício. Shao *et al.* (2013) testaram a adição do vapor do óleo essencial de

melaleuca em frutos de morango e concluíram que houve diminuição do mofo cinzento e do apodrecimento. No estudo de Liu *et al.* (2023) foram desenvolvidos compósitos à base de soja, nanóxido de zinco e óleo essencial de melaleuca, obtendo eficácia no método de aplicação de filmes com desempenho consistente nas análises microbiológicas, garantindo filmes com uma atividade antibacteriana satisfatória nos filmes contendo óleo essencial de melaleuca. O filme contendo nanóxido de zinco, base de soja e óleo essencial de melaleuca exibiu a maior atividade antibacteriana, sendo que *Staphylococcus aureus* foi mais sensível para este filme do que *Escherichia coli*.

Yang *et al.* (2022) desenvolveram um filme com alginato de sódio, óleo essencial de melaleuca e nanopartículas de óxido de titânio, mostrando que o OEM auxilia positivamente nas propriedades antioxidantes e antifúngicas das embalagens biodegradáveis. Roy e Rhim (2021) desenvolveram um filme com ágar, óleo essencial de melaleuca com concentração de 0,5% e 2% de m/m e nanopartículas de sulfeto de zinco. Os autores observaram que a incorporação do OEM, em concentrações de 2% promoveu alterações significativas na estrutura da matriz polimérica, apresentando atividade antimicrobiana relevante. As nanopartículas de sulfeto de zinco contribuíram para uma melhor dispersão do óleo na matriz polimérica e para uma liberação mais controlada dos compostos ativos, reduzindo sua volatilização. Os resultados apresentaram melhorias significativas nas propriedades mecânicas, como uma maior rigidez dos filmes e nas propriedades térmicas, os filmes contendo 1% do OEM e sulfeto de zinco obtiveram maior estabilidade térmica, através das análises termogravimétrica e calorimetria exploratória diferencial.

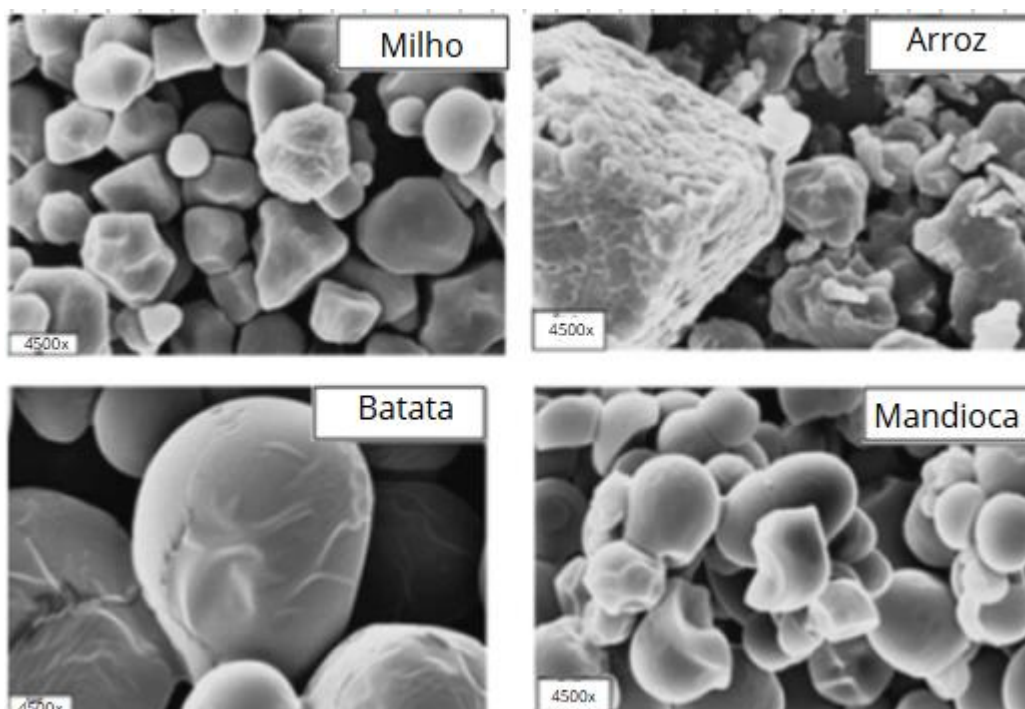
Nos últimos anos houve um grande avanço na tecnologia e aplicação de embalagens, porém, o uso das embalagens sintéticas ainda é bastante utilizado (Monção *et al.*, 2022). Atualmente, tem aumentado gradativamente o uso de embalagens que retardam a oxidação lipídica em alimentos, apresentando bons resultados quando aplicadas em alimentos de origem animal, sementes oleaginosas e óleos (Licciardello, 2017). Por meio dos dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), estima-se que foram desperdiçados 931 milhões de toneladas de alimentos no mundo em 2019. Esse elevado desperdício está relacionado principalmente à deterioração microbiológica e às reações de oxidação lipídica, que comprometem a segurança dos produtos alimentícios. Diante desse

cenário, o desenvolvimento de embalagens ativas, capazes de interagir com o alimento ou com o ambiente ao redor, surge como uma estratégia promissora para reduzir o desperdício de alimentos, ao contribuir para a manutenção da qualidade e o aumento da vida útil dos produtos (Brasil, 2018).

## 2.2 AMIDO

Um biopolímero é classificado como tal quando sua origem é biodegradável ou biológica (Hernández-Garcia *et al.*, 2021). Os materiais biopoliméricos formados por amido são uma adequada alternativa para substituir os plásticos à base de petróleo (Tarique *et al.*, 2022). O amido é formado por grânulos brancos com diferentes dimensões e estruturas para cada tipo de vegetal, conforme mostra a Figura 1 (Bertoft, 2017). O tamanho dos grânulos varia entre 1 e 100  $\mu\text{m}$ , com formato regular ou irregular (Isotton, 2013).

Figura 1 – Microscopia eletrônica de vários tipos de amido



Fonte: Adaptado de Guinese *et al.* (2006).

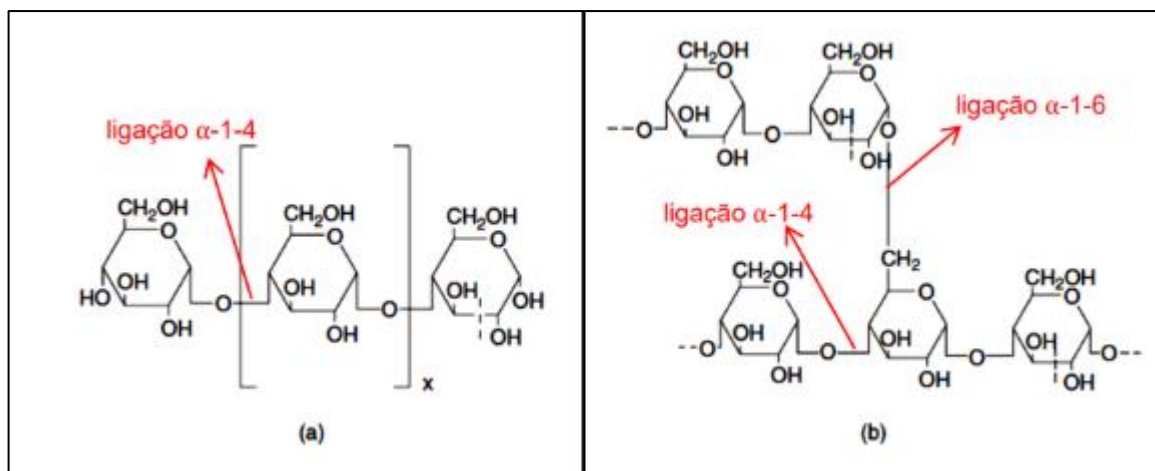
Nos grãos de milho aparecem cerca de 61 a 78% de amido, além de polissacarídeos, proteínas e lipídeos. A parte mais esbranquiçada do grão é chamada de endosperma (Zhang *et al.*, 2021). O amido, cuja fórmula molecular é  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ , é

classificado como um carboidrato e possui importância na reserva de energia das plantas (Isotton, 2013). É um ótimo candidato no preparo de emulsões para embalagens, por ser biocompatível, biodegradável, atóxico e economicamente viável. Pode ser utilizado em diversos setores como têxteis, alimentos, polímeros e papel (Altuna *et al.*, 2018).

Considerado um polímero natural, o amido é composto por duas macromoléculas: amilopectina e amilose. A amilose é essencialmente linear, formada por unidade de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -(1→4), o que favorece o empacotamento das cadeias e a formação de estruturas mais organizadas e densas, fornecendo às embalagens alimentícias características mais flexíveis e fortes. Em contraste, a amilopectina possui cadeia ramificada, composta por ligações  $\alpha$ -(1→4) nas cadeias principais e  $\alpha$ -(1→6) nas ramificações, resultando em uma molécula mais complexa e menos compacta, atribuindo menor resistência à tensão e alongamento. Em função dessas características, a amilose está associada à formação de filmes com maior resistência mecânica, coesão e menor permeabilidade, enquanto a amilopectina contribui para materiais com maior flexibilidade e menor resistência à tração (Padilha, 2019).

A estrutura do amido é semicristalina, sendo composta por regiões cristalinas, relacionadas à amilopectina, e regiões amorfas, nas quais predominam cadeias menos organizadas, incluindo a amilose. Essa organização na estrutura do amido influencia diretamente as propriedades de barreira e a interação com compostos hidrofóbicos, como os óleos essenciais. A presença da amilose pode favorecer a formação de uma matriz mais compacta, dificultando a difusão de agentes antimicrobianos, enquanto que as regiões amorfas e a desorganização estrutural associada à amilopectina podem facilitar a incorporação e a liberação desses compostos. Dessa forma, o equilíbrio entre amilose e amilopectina desempenha um papel fundamental na ação funcional dos filmes, influenciando nas propriedades mecânicas e antimicrobianas, especialmente em sistemas contendo óleos essenciais (Diniz, 2021; Malafatti *et al.*, 2021; Padilha, 2019). A Figura 2 representa a estrutura da composição do amido de milho. A estrutura da amilose está representada na Figura 2-a e a Figura 2-b apresenta a estrutura da amilopectina.

Figura 2 – A estrutura da amilose (a) e amilopectina (b)



Fonte: Adaptado de Oliveira (2015).

Os grãos de amido são insolúveis em água fria, em razão das fortes ligações de hidrogênio que constituem suas cadeias (Liu *et al.*, 2009). Porém, quando aquecido entre 65 a 90 °C, seus grânulos absorvem água, fazendo com que a matriz de amilopectina se quebre e libere amilose no meio aquoso (Bobbio e Bobbio, 2001). O amido possui a capacidade de aumentar a sua viscosidade quando a solução é submetida ao aquecimento (Fennema *et al.*, 2010). Durante o aquecimento das partículas de amido, em excesso de água, os grânulos incham, formando uma pasta de amido (Fennema *et al.*, 2010). A água se incorpora na estrutura da amilose, que é a estrutura mais solúvel, durante o aquecimento dissociando-se e difundindo-se para fora do grânulo. Esse processo caracteriza a gelatinização do amido, sendo a base para a transformação do amido em um material termoplástico (Liu *et al.*, 2009).

No decorrer do processo de gelatinização do amido, ele é convertido de uma forma semicristalina para amorfa. Assim que atinge a temperatura de gelatinização, a dupla hélice de amilopectina é dissociada, embora a expansão da estrutura granular possa ser conservada até em altas temperaturas e com aplicação de cisalhamento (Peroni, 2003). Por outro lado, o fenômeno que ocorre quando as moléculas de amido gelatinizadas começam a se reassociar, favorecendo uma estrutura mais ordenada chama-se retrogradação. Essa estrutura ordenada pode se transformar em uma mais cristalina, sob condições favoráveis (Donald, 2004).

Obtido a partir do amido, por meio do aquecimento e com a presença de um plastificante, o amido termoplástico (TPS) apresenta maior processabilidade do que o

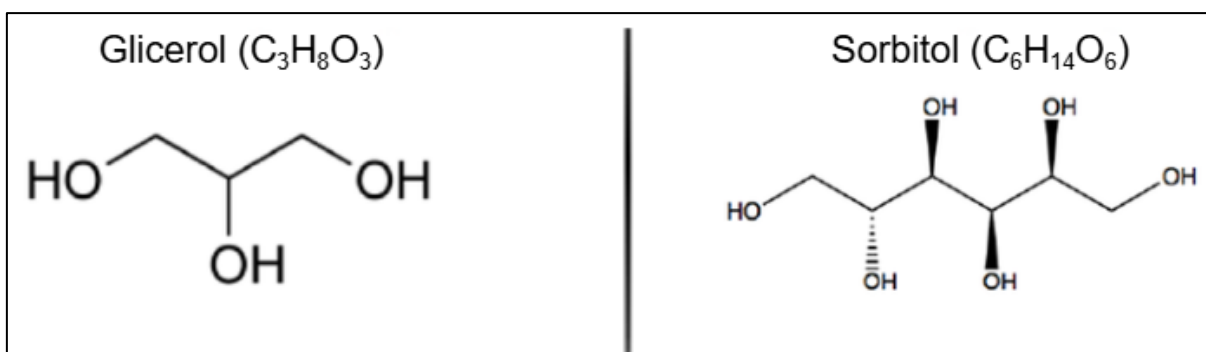
amido puro, em razão da menor temperatura de fusão durante a extrusão (Tian *et al.*, 2024). Na sua forma nativa, o amido apresenta algumas limitações em aplicações industriais, sendo inadequado utilizá-lo como estabilizante em emulsões de embalagens, não conseguindo formar uma barreira eficaz ao redor das gotículas do óleo, por causa da sua baixa hidrofobicidade e ao elevado tamanho das partículas granulares, o que compromete sua capacidade de adsorção na interface de óleo com água e conseqüentemente, a estabilidade da emulsão em sistemas para filmes de embalagens (Li *et al.*, 2019). A fim de contornar essa dificuldade, o amido pode ser utilizado em mistura com outros polímeros biodegradáveis ou plastificantes na fabricação de filmes (Araujo-Farro *et al.*, 2010).

Segundo a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), plastificantes são substâncias adicionadas aos polímeros com a finalidade de aumentar sua processabilidade, flexibilidade ou capacidade de alongamento. Um plastificante pode diminuir a viscosidade do fundido, o módulo elástico, a temperatura de transição vítrea e aumentar a elasticidade (Forini, 2008). A adição de plastificantes, durante a gelatinização do amido, quebra as ligações de hidrogênio intermolecular e intramolecular na estrutura inicial do amido (Chen *et al.*, 2019). Dessa maneira, ocorre a formação de amido termoplástico, resultado da incorporação do plastificante desejado, como o glicerol (Souza *et al.* 2020), sorbitol (Blume *et al.* 2023) e óleo de soja (Gao *et al.*, 2020). Ainda assim, por meio das moléculas dos plastificantes, esse mecanismo diminui as forças de Van der Waals que atuam entre as cadeias poliméricas, reduzindo a atração intermolecular, aumentando assim a flexibilidade da cadeia, interferindo nas propriedades do produto final (Forini, 2008).

O glicerol é um composto orgânico da função álcool, presente em todos os óleos de origem vegetal e animal. O uso dessa substância justifica-se pelo poder plastificante e pelo seu baixo custo. A incorporação do glicerol nos filmes poliméricos confere a maior flexibilidade do produto (Alves *et al.*, 2007). O sorbitol também faz parte do grupo orgânico dos polióis e fornece características de melhorar a flexibilidade e a aparência visual (González-Torres *et al.*, 2021). É uma molécula hidrofílica, possuindo uma ligação intermolecular mais forte com as cadeias poliméricas. A estrutura molecular desses plastificantes está representada na Figura 3.

Geralmente, os plastificantes são adicionados na proporção de 10 a 60 g para 100 g de matéria seca, dependendo da rigidez que se deseja alcançar no material. Porém, em concentrações inferiores a 20 g de plastificante para cada 100 g de amido, pode ocorrer um efeito indesejado, chamado de antiplastificante, diminuindo a flexibilidade (Shimazu *et al.*, 2007).

Figura 3 – Estrutura molecular do glicerol e sorbitol



Fonte: Adaptado de Luchese (2018).

### 2.3 ÓLEO ESSENCIAL

A incorporação de substâncias ativas é uma alternativa para transformar filmes poliméricos em embalagens com propriedades antioxidantes, antimicóticas e antimicrobianas. Conhecido por possuir essas propriedades, o óleo essencial é um composto orgânico natural, produzido por plantas aromáticas. Os componentes ativos que garantem as propriedades funcionais e estão presentes na composição dos óleos essenciais são os ésteres, fenóis, aldeídos e terpenos (Liu *et al.*, 2023).

Os óleos essenciais são incorporados às embalagens para evitar o ataque microbiano aos produtos. Devido às suas propriedades antimicrobianas, podem impedir a atividade dos microrganismos (Poongavanam *et al.*, 2023). Por serem voláteis em altas temperaturas, a introdução do OE em diferentes etapas da preparação do filme pode influenciar diretamente na dispersão do óleo. O filme com a maior liberação do OE no estudo de Chen *et al.* (2025), foi aquele produzido pela incorporação do óleo diretamente no amido, durante a preparação do TPS. Novas ligações de hidrogênio foram formadas com o amido, levando a uma maior dispersão do óleo essencial, além da elevada hidrofobicidade, que auxiliou na liberação do óleo essencial, aumentando a acessibilidade das moléculas de água presentes no filme (Chen *et al.*, 2025).

Souza *et al.* (2020) afirmam que os óleos essenciais provenientes de plantas aromáticas apresentam grande ação antimicrobiana, sendo extremamente eficientes em embalagens no ramo alimentício. Porém, a adição de óleo essencial traz algumas limitações em função da volatilidade, do forte odor e da suscetibilidade à oxidação. A fim de contornar essas limitações, as estratégias incluem a incorporação do óleo essencial através da emulsificação ou nanoencapsulação. Os parâmetros de qualidade das propriedades dos óleos essenciais devem basear-se na composição bioquímica ideal, preservando-as conforme sintetizadas pela natureza, sem qualquer modificação ou alteração realizada pelo homem (Baldoux, 2018).

### 2.3.1 Óleo essencial de Melaleuca

O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (*Tea Tree*), extraído da planta apresentada na Figura 4, é uma mistura contendo monoterpenos, derivados de álcool e sesquiterpenos (Cui *et al.*, 2018). Conhecida popularmente como “árvore do chá” trata-se de uma planta nativa da Austrália (Carson *et al.*, 2006). Caracterizado pela coloração amarelo claro e com um odor agradável, esse óleo essencial é obtido pela destilação a vapor das folhas da planta e possui ação anti-infecciosa, imunomoduladora, analgésica e radioprotetora, constituindo-se em um composto com propriedades terapêuticas. Sua formulação é complexa, contendo mais de 100 componentes (Baldoux, 2018; Da Silva *et al.*, 2020; Silveira *et al.*, 2019).

Figura 4 – Planta de melaleuca

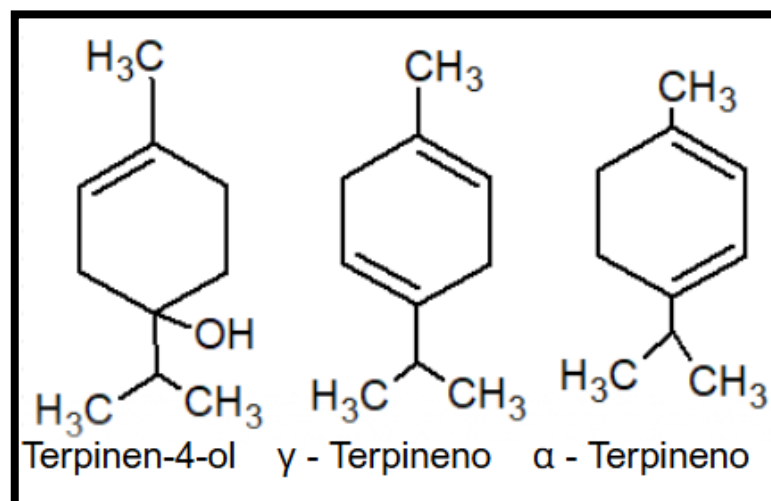


Fonte: Óleos essenciais.ORG, 2025. Disponível em: <https://www.oleosessenciais.org/oleo-essencial-de-tea-tree-melaleuca/>

A utilização do óleo essencial de melaleuca tornou-se uma prática mais popular quando estudos comprovaram sua ação antimicrobiana, nas décadas de 1920 e 1930 (Carson *et al.*, 2006). O OEM também é considerado uma substância antioxidante, de natureza biodegradável contendo fenóis, terpenos e flavonoides (Sathiyaseelan *et al.*, 2021).

A propriedade antibacteriana do OEM ocorre devido à alta concentração do componente terpinen-4-ol (Silveira *et al.*, 2019). Esse composto possui toque amadeirado com um aroma apimentado (Neto *et al.*, 2022). Entretanto, as características antimicrobianas do OEM resultam das interações complexas entre seus diversos componentes (Silveira *et al.*, 2019). Os terpenos são hidrocarbonetos aromáticos voláteis e são considerados derivados de isopreno (Carson *et al.*, 2006). O terpinen-4-ol (Figura 5) é o principal componente que exerce os efeitos antibacterianos do OEM, e quanto maior for a sua concentração, maior é sua ação antimicrobiana. Estudos relataram que atua eliminando completamente as bactérias *e. coli* e *S. epidermidis*, após uma hora de tratamento. O  $\alpha$ -terpineno também contribui com a atividade antimicrobiana, mas com um grau inferior ao terpinen-4-ol (Jesus *et al.*, 2007; Nguyen *et al.*, 2023).

Figura 5 – Principais componentes do óleo essencial de melaleuca



Fonte: Adaptado de Mirante, 2015.

Porém, o uso de grandes quantidades do óleo de melaleuca não diluído pode causar irritações e alergias na pele, devido ao componente 1,8-cineol, tóxico, presente no óleo. Segundo Russell (1999), experimentos em ratos e casos de envenenamento

humano indicam que o OEM pode apresentar toxicidade. A dose letal mediana em ratos varia entre 1,9 e 2,6 mL/kg.

Alguns estudos como os de Proença (2020), Carson *et al.* (2006), Song *et al.* (2022) mostram a eficácia do óleo essencial de melaleuca em embalagens ativas, sendo o OEM ativo contra as bactérias gram-positivas, gram-negativas, bacilos ácidos resistentes, leveduras e fungos. Yang *et al.* (2022) desenvolveram filmes de bicamadas à base de alginato de sódio e nanoemulsão de OEM incorporados com dióxido de titânio, avaliando seus efeitos anticorrosivos, na conservação pós-colheita de bananas. Os resultados demonstraram uma melhora na qualidade e manutenção do frescor das bananas, sendo observado que a incorporação do óleo essencial de melaleuca contribuiu significativamente para o aprimoramento das propriedades antifúngicas e antioxidantes dos filmes.

Sathiyaseelan *et al.* (2021) investigaram a aplicação do OEM na conservação de pimentões vermelhos, demonstrando satisfatória atividade antioxidante e antimicrobiana. Os autores relataram a inibição do crescimento de microrganismos nas bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e nos fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. A aplicação do OEM reduziu a carga microbiana, com diminuições de aproximadamente 100 UFC/g a 1000 UFC/g, durante o período de armazenamento, em comparação com o controle. Ademais, observaram maior retenção de compostos fenólicos e atividade antioxidante nos pimentões tratados, indicando menor degradação dos alimentos. Esses efeitos refletiram nos parâmetros de qualidade, como cor, resistência mecânica e frescor, evidenciando o potencial do OEM como agente natural, para a extensão da vida útil de produtos alimentícios.

No estudo de Liu *et al.* (2023) compósitos à base de soja com nanóxido de zinco e óleo essencial de melaleuca foram estudados, obtendo-se melhoria nos resultados através das análises antibacterianas, para cepas bacterianas Gram-positivas (*S. aureus*) e Gram-negativas (*E. coli*), mostrando a eficiência da incorporação do OEM nas embalagens ativas. Os autores observaram a formação de zonas de inibição variando entre 8 a 14 mm para *S. aureus* e 7 a 12 mm para *E. coli*. O menor tamanho da zona de inibição ao redor dos discos das amostras foi devido à baixa concentração de óleo essencial de melaleuca nos filmes. A concentração de OEM aplicada aos filmes foi de 0,5 % e 2% m/m, sendo que o aumento da concentração resultou em uma maior atividade antibacteriana. No entanto, mesmo nas maiores concentrações

de OEM, as zonas de inibição foram consideradas moderadas, o que foi atribuído à limitada difusão do OE a partir da matriz polimérica. Adicionalmente, verificou-se que as amostras contendo soja solúvel, nanóxido de zinco e óleo essencial de melaleuca exibiram maior atividade antibacteriana do que filmes formados somente por soja solúvel. Esses resultados confirmam o potencial desses filmes para aplicação em embalagens ativas, contribuindo para a conservação de alimentos. Roy e Rhim (2021), desenvolveram um filme com ágar, óleo essencial de melaleuca e nanopartículas de sulfeto de zinco, obtendo resultados significativos nas propriedades mecânicas e térmicas devido à adição do OEM.

#### 2.4 FILMES POLIMÉRICOS DE AMIDO COM ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA

Filmes poliméricos formados por amido e óleo essencial são uma alternativa para substituição de materiais sintéticos e uso em embalagens ativas, possuindo propriedades antioxidantes e antibacterianas (Perdana, 2021; Roy *et al.*, 2021; Song *et al.*, 2022). Os filmes poliméricos contendo óleo essencial de melaleuca apresentam adequadas propriedades antioxidantes, devido à presença dos grupos fenólicos bioativos, podendo atuar como doadores de elétrons ou átomos de hidrogênio para eliminar os radicais livres. Dentre os componentes químicos presentes no OEM, destacam-se terpinen-4-ol,  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$ -terpineno, pelas atividades bioativas (Roy; Rhim, 2021).

Além disso, um dos desafios das embalagens ativas é o controle da migração desses componentes ativos voláteis, como os óleos essenciais. Em muitos casos, as taxas de liberação desses componentes ativos são muito altas, comprometendo a sua função na embalagem (Almeida *et al.*, 2020; Alves, 2018; Graebin, 2022; Souza *et al.*, 2022). Souza *et al.* (2020) desenvolveram e caracterizaram um sistema híbrido à base de amido termoplástico, óleo essencial de carvacrol e argila montmorilonita. Nesse estudo, o óleo essencial de carvacrol foi responsável pela atividade antimicrobiana, enquanto a argila atuou como reforço estrutural e agente de melhoria das propriedades de barreira. Os filmes possuem grande potencial para serem utilizados em embalagens alimentícias, como aquelas destinadas à frutas e vegetais, devido à combinação de propriedades mecânicas, efeito antimicrobiano e maior estabilidade do material.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

O amido de milho usado é da marca Adicel Indústria e Comércio LTDA (Belo Horizonte), com teor de umidade de 12% e o pH variando entre 4,5 e 5,5. O polissorbato 80 (tween 80) foi adquirido da empresa ACS Científica (Sumaré – SP), atuando como surfactante hidrofílico. Os plastificantes usados foram o glicerol e o sorbitol. O glicerol P.A. foi adquirido da Êxodo Científica (São Paulo) e o sorbitol da Fillovita Web Store (São Paulo).

O óleo essencial de melaleuca foi adquirido da dōTERRA (Barueri – SP). A extração do óleo essencial foi realizada por destilação a vapor, a partir das folhas da planta. O óleo essencial foi analisado pelo fornecedor por meio de cromatografia gasosa, espectrometria de massas (GC–MS). Os principais componentes químicos presentes no OEM são: terpinen-4-ol,  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$ -terpineno (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição química do óleo essencial melaleuca por cromatografia

<b>Componentes</b>	<b>Concentração (%)</b>
terpinen-4-ol	42,07
$\gamma$ -terpineno	18,65
$\alpha$ -terpineno	10,18
1,8-cineol	2,46
p-cimeno	2,06
Outros	23,25

Fonte: Adaptado da dōTERRA (2023).

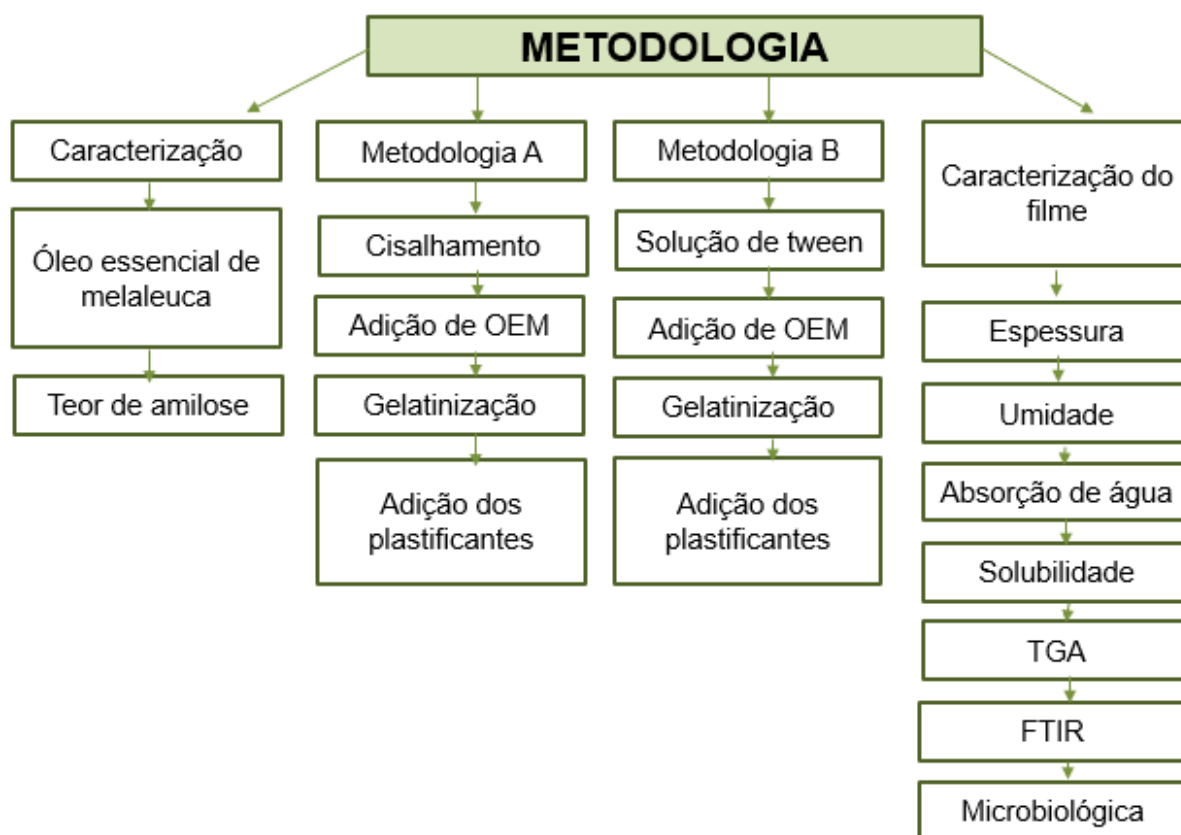
O terpinen-4-ol, principal composto na formulação do óleo essencial de melaleuca, está associado com a propriedade antibacteriana. O mecanismo antimicrobiano do OEM resulta em interações complexas entre seus diferentes componentes (Silveira *et al.*, 2019). O terpinen-4-ol atua desestabilizando a membrana celular de microrganismos, com concentrações inibitórias mínimas variando de 0,125 e 2%, apresentando forte atividade antimicrobiana. O terpinen-4-ol,  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$ -terpineno e 1,8-cineol são responsáveis pelas propriedades funcionais observadas em filmes de amido incorporados com óleo essencial. Além disso, devido

à natureza hidrofóbica dos terpenos, observa-se uma melhoria nas propriedades de umidade dos filmes. Por outro lado, esses compostos também atuam como plastificantes naturais, reduzindo a resistência mecânica e aumentando a flexibilidade dos filmes (Hammer *et al.*, 2012).

### 3.2 MÉTODOS

A metodologia é dividida em três etapas: inicialmente, foi realizada a caracterização do óleo essencial de melaleuca, para determinação da concentração mínima inibitória e da concentração máxima bactericida. A partir dos resultados da primeira etapa, foram selecionadas concentrações para a preparação dos filmes, utilizando dois métodos distintos, o de cisalhamento (A) e o com surfactante (B). Na última etapa, foi realizada a caracterização dos filmes preparados pelas metodologias A e B. A Figura 6 representa as etapas das metodologias.

Figura 6 – Esquema representativo das etapas envolvidas para a caracterização do óleo essencial e amido de milho e para a preparação e caracterização dos filmes



### 3.2.1 Caracterização do óleo essencial de melaleuca: concentração mínima inibitória (CIM) e concentração mínima bactericida (CBM)

As análises foram realizadas pelo Centro de Laboratório Regional IAL Santo André (São Paulo). Os materiais isolados são avaliados em relação à suscetibilidade através da diluição de caldo modificado, seguindo as diretrizes descritas no documento Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M07-M10 de 2022. Os testes realizados atendem as especificações da 32ª edição do M100 do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais, Wayne, PA, para as análises de suscetibilidade antimicrobiana.

Os testes de CBM e CIM foram aplicados em microplacas contendo 96 poços de fundo plano, através do método de diluição seriada. Foi preenchido, em cada poço, o volume de 100 µL de Caldo Mueller Hinton (KASVI), contendo 20% de surfactante Polissorbato (tween® 20, da Sigma Aldrich). No primeiro poço foram colocados 200 µL de óleo essencial. Da mesma maneira, foram despejados 100 µL desse volume e transferidos para o segundo poço, e assim, sucessivamente até o décimo segundo poço. Em seguida, 100 µL da suspensão de cada bactéria isolada foram colocadas em cada poço, conforme Tabela 2.

Tabela 2 – Concentração do OEM em cada poço para determinação de CIM e CBM

<b>Número do poço</b>	<b>Concentração de OEM (%v/v)</b>
1	100
2	50
3	25
4	12,5
5	6,25
6	3,125
7	1,56
8	0,78
9	0,39
10	0,195
11	0,097
12	0,0488

Fonte: Adaptado do Centro de Laboratório Regional IAL Santo André (2024).

A incubação das placas ocorreu na temperatura de 37 °C durante 24 h. A CIM é determinada como a menor concentração na qual não se observa crescimento visível da bactéria, sendo identificada no último poço da série de diluições que permanece límpido. Foram usadas soluções de bacterianas de *Salmonella enterica* subsp. *Enterica serovar Choleraesuis* (ATCC 10708), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 11229). Esse teste foi realizado em duplicata e em dias distintos. Para a *Salmonella* o teste foi realizado no final de julho e repetido no início de agosto, para *Escherichia coli* e *Staphylococcus* foi feito no início de agosto e repetido no final de agosto.

### **3.2.2 Caracterização do teor de amilose do amido**

As análises do teor de amilose do amido de milho foram realizadas no Instituto Federal do Rio Grande do Sul, Campus Farroupilha, no equipamento T80+ UV/VIS Spectrometer PG Instruments Ltd.

A caracterização foi baseada em Avaro *et al.* (2011). Foram colocados 100 mg de amido de milho em um tubo de falcon. Adicionou-se 1 mL de etanol 95% e 9 mL de NaOH 1M. Essa solução foi levada ao banho de água fervente por 10 min. O falcon foi removido do banho e colocado para esfriar por 10 minutos. Essa solução foi transferida para um balão de 100 mL e completou-se o volume para 100 mL. Após, 5 mL dessa solução foi transferida para um balão de 100 mL, onde foi adicionado 1 mL de HCl 1M e 2 mL de iodine (2 g de iodo e 20 g de iodeto de potássio por litro), mais água destilada para completar o volume. As leituras em espectrofotômetro foram realizadas na faixa de 620 nm. A solução de 1 mL de HCl 1 M com 2 mL de solução de iodine mais água foi usada como padrão.

### **3.2.3 Preparação dos filmes**

Neste estudo, foram produzidos filmes poliméricos de amido de milho utilizando duas metodologias distintas para a incorporação do óleo essencial de melaleuca, sem e com a utilização do surfactante tween 80. A Tabela 3 apresenta a denominação e os percentuais usados de amido de milho, óleo essencial de melaleuca, tween 80, glicerol e sorbitol.

Tabela 3 – Denominação e composição das formulações dos filmes estudados

Amostra	Amido de milho (gramas)	OEM (% em massa)*	Tween (% em massa)*	Glicerol (% em massa)*	Sorbitol (% em massa)*
FA_MetA_OE0	10	--	--	19	19
FA_MetA_OE2	10	2	--	19	19
FA_MetA_OE4	10	4	--	19	19
FA_MetB_OE0	10	--	--	19	19
FA_MetB_tw_OE2	10	2	0,6	19	19
FA_MetB_tw_OE4	10	4	1,3	19	19

\*em base seca de amido.

A metodologia A foi feita a partir da inclusão de uma etapa de moagem do amido, cujo filme padrão foi denominado FA\_MetA\_OE0. No filme com adição do óleo essencial de melaleuca na concentração de 2% em massa foi usada a sigla FA\_MetA\_OE2. Já no filme com a sigla FA\_MetA\_OE4 foi utilizada uma concentração de 4% em massa do óleo essencial de melaleuca. Em contrapartida, na metodologia B foi usado o surfactante tween 80. O filme controle, usando apenas o amido de milho, foi denominado FA\_MetB\_OE0. O filme FA\_MetB\_tw\_OE2 contém tween e 2% do OE em massa e o filme FA\_MetB\_tw\_OE4 contém 4% do óleo essencial de melaleuca em massa e tween.

O teor de 4% em massa, de óleo essencial foi usado em função do teor do limite do óleo na amostra. Conforme mostra a Figura 7, na concentração de 6% em massa, de óleo essencial de melaleuca (calculado em base seca de amido), o filme apresentou rachaduras e tornou-se quebradiço. De acordo com estudos de Song *et al.* (2018), foi utilizado 2% em massa, de óleo essencial de limão e surfactantes. A quantidade em massa de tween 80 foi usada na proporção de 1:3, em relação a quantidade de óleo essencial, adaptado dos estudos de Souza *et al.* (2020) e Liu *et al.* (2023).

Figura 7 – Imagem ilustrativa de um filme produzido no teor de 6% do óleo de melaleuca estudado (calculado em base seca de amido)



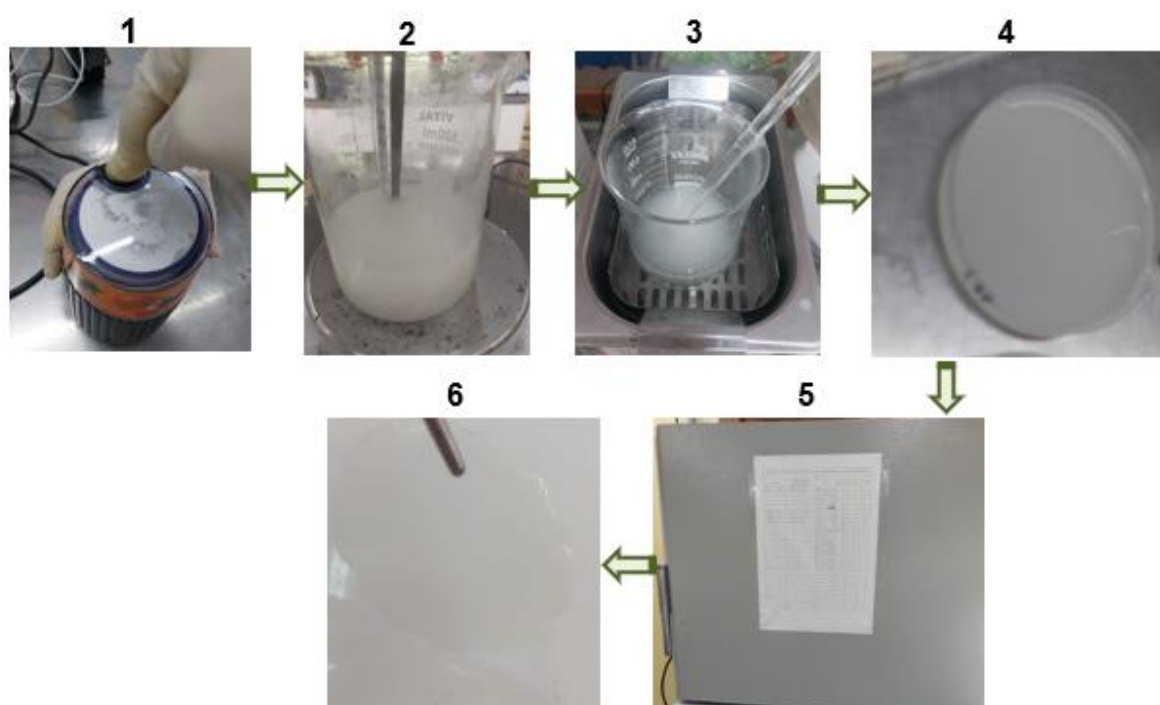
### 3.2.3.1 Preparação dos filmes usando a metodologia A

Para o desenvolvimento do filme FA\_MetA\_OE0, pesou-se 10,1 g de amido de milho, que permaneceu no moedor (Perfect Coffe – Philco de 170 W) até atingir 50 °C. Esse moedor é equipado com lâminas potentes que garantem uma trituração uniforme dos grãos. A temperatura foi monitorada com um termômetro digital a laser (GM 320 - Zyhun). Essa mistura foi adicionada em 250 mL de água deionizada e aquecida até 80 °C em chapa de aquecimento (Cama 5 - Centauro), sob agitação manual e constante para a gelatinização do amido, durante 10 min. Posteriormente, foram adicionados os plastificantes, 19% em massa de glicerol e 19% em massa de sorbitol, baseados nos estudos de Mulhen (2023) e Blume et al. (2023), sendo mantida a suspensão a 85 °C por 5 min. A temperatura foi controlada com um termômetro (5003 – Incoterm). As amostras foram submetidas a banho de ultrassom (SSBu 10L - Solidsteel) para remover bolhas. Após, foi vertido 30 mL da mistura nas placas de petri de poliestireno (90 x 15 mm), e as amostras foram secas em estufa (Lucadema - SP), durante 24 h a 35 °C. Após os filmes foram envolvidos com papel manteiga e armazenados em um local protegido da luz.

As formulações FA\_MetA\_OE2 e FA\_MetA\_OE4 (metodologia A) foram preparadas de acordo com o esquema apresentado na Figura 8. O amido de milho foi pesado e moído no moedor (Perfect Coffe - Philco) até atingir 50 °C. A temperatura foi monitorada com um termômetro digital a laser (GM 320 - Zyhun). Após, foi adicionado o óleo essencial de melaleuca no moedor, gota por gota, até completa homogeneização com o amido. Essa mistura foi adicionada em 250 mL de água deionizada e aquecida até 80 °C na chapa de aquecimento (cama 5 - Centauro), sob

agitação constante para a gelatinização do amido, durante 10 min. Posteriormente, foram adicionados os plastificantes, 19% em massa de glicerol e 19% em massa de sorbitol, a 85 °C e 5 min. A temperatura foi controlada com um termômetro (5003 – Incoterm). As amostras foram colocadas no banho de ultrassom por 10 min (SSBu 10L - Solidsteel). Depois, foi transferido 30 mL da mistura na placa de petri de poliestireno (90 x 15 mm), e a secagem ocorreu em estufa (Lucadem - SP), durante 24 h a 35 °C. Após os filmes foram envolvidos com papel manteiga e armazenados em um local protegido da luz.

Figura 8– Fluxograma da preparação do filme utilizando a metodologia A



### 3.2.3.2 Preparação dos filmes usando a metodologia B

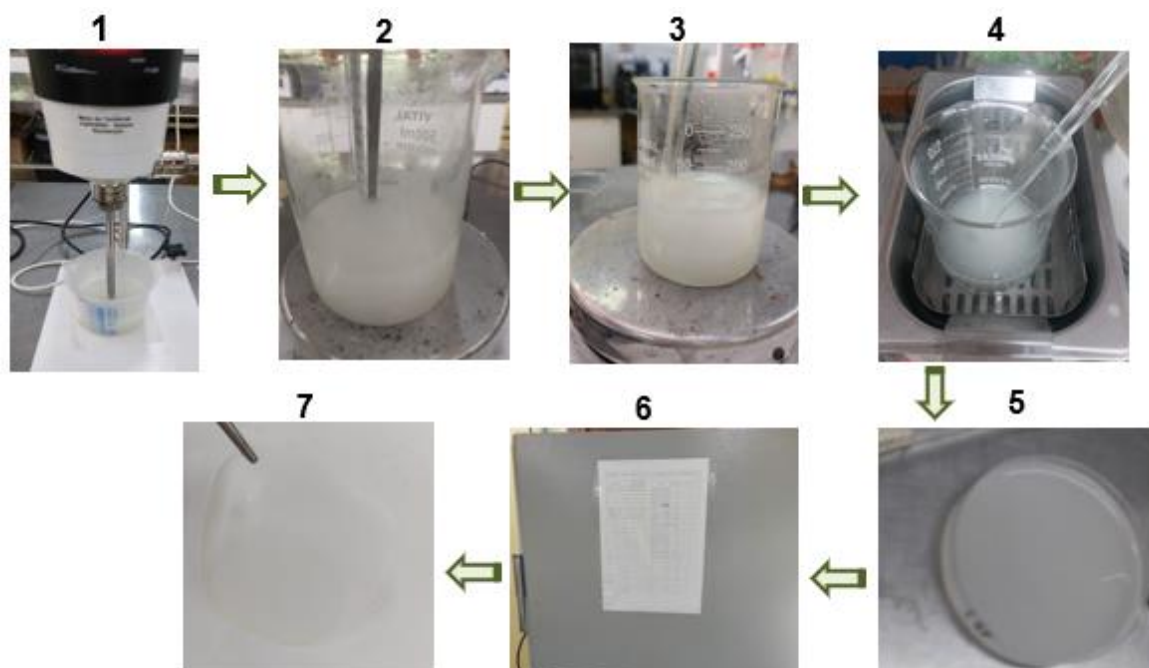
A preparação dos filmes de amido usando a metodologia B foi realizada pelo método de *casting*, adaptado de Muhlen (2023), Souza *et al.* (2013), Souza *et al.* (2020) e Jha (2021).

Na formulação FA\_MetB\_OE0, utilizou-se 10,1 g de amido de milho em 250 mL de água deionizada, na chapa de aquecimento (Cama 5 - Centauro), sob agitação constante por 10 min em torno de 80 °C. A temperatura foi controlada com um termômetro (5003 – Incoterm). Adicionou-se um total de 38% em massa dos dois

plastificantes, 19% em massa de glicerol e 19% em massa de sorbitol, em base seca de amido, na proporção de 1:1, sob agitação a 85 °C durante 5 min. As amostras foram submetidas no banho de ultrassom (SSBu 10L - Solidsteel), para remover bolhas. Após, 30 mL da suspensão foi vertida nas placas de petri de poliestireno (90 x 15 mm), e realizada a secagem na estufa (Lucadem - SP), por 24 h numa temperatura de 35° C. Após os filmes foram envolvidos com papel manteiga e armazenados em um local protegido da luz.

Para os filmes contendo óleos essencial, FA\_MetB\_tw\_OE2 e FA\_MetB\_tw\_OE4 a suspensão acima preparada (amido com água e plastificantes), permaneceu em agitação até atingir 60 °C, conforme apresentado na Figura 9. A temperatura foi controlada com um termômetro (5003 – Incoterm). Enquanto isso, 20 mL de água e tween foram misturados até completa homogeneização em um agitador mecânico (713D – Fisatom), por 20 min. Posteriormente foi incorporado óleo essencial, na proporção de 1:3 (tween:óleo essencial), no agitador mecânico por 65 min. A mistura foi vertida vagarosamente, à suspensão preparada anteriormente. Utilizou-se 2% de óleo essencial em massa para FA\_MetB\_tw\_OE2 e 4% do OE para FA\_MetB\_tw\_OE4, calculado em base seca de amido.

Figura 9 - Fluxograma da preparação do filme utilizando a metodologia B



### 3.2.4 Caracterização dos filmes

#### 3.2.4.1 Espessura e aspecto visual

A espessura dos filmes foi medida com auxílio do micrômetro analógico Cosa de 0 – 25 mm, em cinco pontos diferentes. A medição foi feita em triplicata, em vários pontos diferentes de cada amostra, e a média com desvio padrão foi apresentada (Blume *et al.*, 2023).

#### 3.2.4.2 Teor de umidade

O teste de umidade foi realizado de acordo com Hazrati *et al.* (2021), em triplicata. As amostras foram pesadas, secas na estufa do tipo secador de bandejas (Lucadema - SP), em 105 °C durante 24 h, e depois pesadas novamente. O teor de umidade foi calculado de acordo com a equação 1 para a amostra de amido pura (matéria-prima) e para os filmes produzidos, onde  $w_i$  corresponde à massa inicial e  $w_f$  à massa final.

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{(W_i - W_f)}{W_i} \times 100 \quad (1)$$

#### 3.2.4.3 Absorção de água

Em triplicata, as amostras secas foram cortadas em um tamanho de 10 mm x 10 mm e pesadas ( $w_i$ ). Após, foram imersas em água durante 24 h. O excesso de água foi retirado com um papel toalha e as amostras foram pesadas novamente ( $w_f$ ) (Sanhawong *et al.*, 2017).

$$\text{Absorção de água} = \frac{w_f - w_i}{w_i} \times 100 \quad (2)$$

#### 3.2.4.4 Solubilidade em água

O teste de solubilidade de água ( $W_s$ ) foi realizado em base no trabalho de Liu *et al.* (2023). As amostras secas foram cortadas em um tamanho de 20 mm x 20 mm e pesadas ( $w_i$ ). Foram imersas numa quantidade de 50 mL de água deionizada por 3 h a 25 °C e depois as amostras foram secas na estufa a 105 °C até massa constante ( $w_f$ ), de acordo com a equação 3:

$$W_s = \frac{w_i - w_f}{w_i} \times 100 \quad (3)$$

#### 3.2.4.5 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi realizada no equipamento da Perkin Elmer (EUA), usando 10 mg de cada amostra, sob taxa de aquecimento de 10 °C/min, na faixa de 30 °C a 800 °C, em fluxo de nitrogênio a 50 mL/min (Muhlen, 2023).

#### 3.2.4.6 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise de FTIR (Perkin Elmer Frontier, EUA) foi realizada pela técnica de refletância total atenuada (ATR). Os espectros analisados estavam na faixa de uma região de 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$ , numa resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 16 varreduras (Bohnenberger, 2024). Foi realizado análise em três pontos diferentes para cada amostra em triplicata.

#### 3.2.4.7 Caracterização microbiológica

A análise antimicrobiana dos filmes com óleo essencial de melaleuca contra *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foi determinada pelo Centro de Laboratório Regional IAL Santo André (Santo André – SP), por meio do teste de difusão em disco. A suspensão das cepas padrão bacterianas isoladas foi preparada com turbidez padrão de 0,5 de McFarland, em uma concentração padrão de  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL (unidades formadoras de colônia por mililitro). Essas cepas foram utilizadas para contaminar placas com ágar Mueller-Hinton (KASVI). As amostras dos filmes que apresentavam diâmetros de 10 mm, foram adicionadas nas placas, inoculadas e incubadas em estufa a 37 °C por 24 h.

#### 3.2.4.8 Análise estatística

O teste de Análise de Variância (ANOVA) de um fator, com nível de confiança de 95% e nível de significância de 0,05, foi aplicado para verificar diferenças significativas entre as médias das amostras de todos os grupos, ao mesmo tempo, ou seja, pode-se comparar as duas metodologias estudadas. Adicionalmente, o teste de Tukey foi realizado para identificar quais amostras apresentaram diferenças estatísticas entre si. Os testes estatísticos foram conduzidos utilizando o software Past 4.03. As análises foram realizadas para os ensaios de espessura, umidade, absorção de água e solubilidade. As diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando  $p \leq 0,05$ . Para médias estatisticamente iguais, foram utilizadas letras semelhantes.

## 4 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS

### 4.1 Caracterização do óleo essencial de melaleuca: concentração mínima inibitória (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

A análise da CIM e CBM no óleo essencial de melaleuca foi de extrema importância para determinar a quantidade necessária na formulação dos filmes. A partir dos resultados apresentados na Tabela 4, verifica-se que o óleo essencial de melaleuca é eficaz para os microorganismos de *E. coli* e *Salmonella*. Para a bactéria *Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Choleraesuis* ATCC 10708, o óleo apresentou 0,39% de CIM e 0,78% de CBM, o valor da CIM foi de 0,39% e o valor da CBM foi de 0,78% para a bactéria *Escherichia coli* ATCC 11229. Entretanto, na análise realizada do OEM para a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, não inibiu para CIM e CBM.

Tabela 4 – CIM e CBM do óleo essencial de melaleuca com as bactérias *Salmonella*, *E. coli* e *S. aureus*

Bactéria	CIM (%)	CBM (%)
<i>Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Choleraesuis</i> ATCC 10708	0,39	0,78
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	0,39	0,78
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Não inibiu	Não inibiu

Os resultados obtidos para a concentração mínima inibitória e bactericida mínima do óleo essencial de melaleuca estão de acordo com a literatura, que reporta valores entre 0,25% e 1,5% para cepas de *Escherichia coli* (Gioppo *et al.* 2019) e valores de 0,44% a 0,53% par CIM e 0,96% a 1,10% para CBM (Werle *et al.*, 2022). Entretanto, os filmes de amido de milho incorporados de 2 e 4% do OEM não apresentaram atividade antimicrobiana. Esse comportamento pode ser explicado pela limitação da difusão do óleo essencial na matriz polimérica, aprisionando o OE no polímero causando diminuição na atividade antimicrobiana e a perda de volatilização do OE durante o processo.

As Figuras 10 a 12 apresentam os resultados dos ensaios em duplicata, para a CIM e CBM do óleo de melaleuca para *Salmonella*, *E. coli* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente. A CIM se trata do poço com a menor concentração que inibe o

desenvolvimento da bactéria, por outro lado, a CBM é o poço que se refere à menor concentração que é capaz de eliminar completamente a bactéria.

Figura 10 – CIM e CBM do óleo melaleuca para *Salmonella*



Fonte: Centro de Laboratório Regional IAL Santo André (2024).

Figura 11 – CIM e CBM do óleo melaleuca para *E. coli*



Fonte: Centro de Laboratório Regional IAL Santo André (2024).

Figura 12 – CIM e CBM do óleo melaleuca para *Staphylococcus aureus*



Fonte: Centro de Laboratório Regional IAL Santo André (2024).

## 4.2 Caracterização do teor de amilose

Os valores do teor de amilose são reportados na Tabela 5. A média para o teor da amilose nas amostras de amido de milho foi de 35,46%  $\pm$  0,30. Conforme o estudo de Avaro *et al.* (2011), um alto teor é reportado para valores acima de 25% de amilose. No estudo de Perez; Agama-Acevedo (2017), o teor de amilose varia entre 25 a 30% nos amidos normais. O teor de amilose obtido nas amostras mostrou-se adequado para aplicação em filmes destinados a embalagens ativas, uma vez que influencia diretamente em suas propriedades. De acordo com Cano *et al.* (2014), filmes com maior quantidade de amilose apresentam maior rigidez, maior resistência à fratura e menor extensibilidade. Em concordância com Myllärinen *et al.* (2002), os filmes com maior teor de amilose mostraram-se mais estáveis em água, demonstrando maior resistência à hidrólise, enquanto as amostras contendo maior quantidade de amilopectina foram completamente hidrolisados.

Tabela 5 – Teor de amilose

<b>Amostra</b>	<b>Teor de amilose (%)</b>
1	35,8
2	35,2
3	35,4

## 4.3 Caracterização dos filmes

### 4.3.1 Espessura e aspecto visual

A Tabela 6 apresenta os resultados da espessura para as amostras estudadas, e os valores reportados ficaram na faixa entre 0,15 mm e 0,20 mm. De acordo com a análise estatística realizada, a incorporação de OE não afetou de modo significativo o resultado das espessuras dos filmes.

Nos estudos de Blume *et al.* (2023), a espessura dos filmes variou entre 0,115 mm e 0,127 mm. Resultados semelhantes foram encontrados nos trabalhos de Muhlen (2023), obtendo uma variação de 0,13 mm para 0,17 mm, e no de Wang *et al.* (2023) a espessura foi de 0,10 a 0,18 mm. Os resultados obtidos para os filmes produzidos estão em concordância com a faixa de valores reportada na literatura para materiais similares.

Tabela 6 – Espessura dos filmes

<b>Filmes</b>	<b>Espessura (mm)</b>
FA_MetA_OE0	0,15 ± 0,01 <sup>a</sup>
FA_MetA_OE2	0,17 ± 0,01 <sup>a</sup>
FA_MetA_OE4	0,17 ± 0,02 <sup>a</sup>
FA_MetB_OE0	0,19 ± 0,01 <sup>a</sup>
FA_MetB_tw_OE2	0,18 ± 0,02 <sup>a</sup>
FA_MetB_tw_OE4	0,20 ± 0,01 <sup>a</sup>

\*Amostras com as mesmas letras não apresentam diferença significativa entre si (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

A transparência e o aspecto visual dos filmes foram avaliados qualitativamente por meio da visualização de um padrão de texto posicionado ao fundo das amostras, permitindo observar a nitidez, homogeneidade e opacidade dos filmes, de acordo com as Figura 13 e 14 (ASTM D1003, 2013). Observa-se que as amostras apresentam aspecto homogêneo e transparente, e foram observadas pequenas diferenças entre os filmes comparando-se as duas metodologias.

Nos filmes da metodologia A (Figura 13), a amostra do filme FA\_MetA\_OE0 apresentou um aspecto compacto, superfície mais lisa, homogêneo, moderadamente turvo, maior flexibilidade e menor espessura. A amostra FA\_MetA\_OE2 demonstrou características visuais mais nítidas, homogêneas, com aspecto mais claro e mais transparente em comparação com as demais amostras. O filme FA\_MetA\_OE4 obteve um aspecto visual homogêneo, menos transparente e mais opaco.

Em contrapartida, os filmes produzidos pela metodologia B (Figura 14), exibiram maior opacidade, e maior espessura. A amostra FA\_MetB\_OE0 apresentou um aspecto mais turvo, homogêneo e com uma menor transparência. Já o filme FA\_MetB\_tw\_OE2 obteve a maior transparência dessa metodologia, além de homogêneo e mais claro. O filme FA\_MetB\_tw\_OE4 não apresentou total homogeneidade em todas as partes da amostra, apresentando pontos mais claros e transparentes e outros, mais turvos e opacos. Nas amostras contendo óleo essencial de melaleuca o cheiro do OE é característico. A cor e a transparência dos filmes usados em embalagens alimentícias desempenham um papel importante na aceitação da embalagem pelos consumidores (Mendes *et al.*, 2020). No estudo de Cai *et al.* (2020), a adição de óleo essencial de tomilho reduziu, de maneira significativa a transparência dos filmes de amido.



### 4.3.2 Teor de umidade

O teor de umidade obtido para o amido de milho foi de 12%. No estudo de Mulhen (2023), os resultados da umidade do filme com amido de milho foram de ~15%. Nesse estudo, os valores médios obtidos para a umidade dos filmes variou entre 15,35 a 18,21%, conforme resultados apresentados na Figura 15.

A amostra FA\_MetA\_OE4 apresentou o menor valor médio percentual de 15,35%, enquanto o filme FA\_MetA\_OE0 obteve maior teor de umidade, com valor médio de 18,21%. Para a metodologia B, os valores médios para os três filmes estudados foram de 16%, mas o filme FA\_MetB\_tw\_OE4 apresentou um menor teor de umidade, com pouca diferença, não apresentando impacto significativo. Isso, devido a concentração do tween, que foi suficiente para estabilizar a emulsão, mas insuficiente para modificar a umidade em termos significativos. No entanto, fazendo a análise estatística, os resultados não apresentam diferenças significativas entre si, considerando  $p < 0,05$  (teste de Tukey).

Comparando as duas metodologias, a técnica A apresentou uma tendência de redução no teor de umidade com o aumento do percentual de óleo essencial na amostra. Conforme Martins *et al.* (2021), a incorporação do óleo essencial nos filmes aumenta a propriedade hidrofóbica da matriz polimérica.

No trabalho de Song *et al.* (2022), foi utilizado quitosana, solvente eutético, óleo essencial de melaleuca e ácido cítrico. Semelhante com a metodologia A, no intuito de desenvolver um filme sem adição de surfactante, os autores obtiveram filmes com menor percentual de umidade à medida que se aumentava a concentração de óleo essencial nas amostras.

Em contrapartida, os resultados encontrados na metodologia B não alcançaram diferença significativa com a incorporação do óleo essencial. Equivalente ao estudo de Bharti *et al.* (2021), onde o valor do teor de umidade não revelou diminuição significativa com o aumento de concentração do óleo essencial. Esses resultados podem ser atribuídos à redução do caráter hidrofílico da matriz polimérica após a incorporação do óleo essencial, pelos compostos presentes e os grupos hidroxila, reduzindo a disponibilidade dos grupos hidroxila para a interação das moléculas de água, gerando em filmes mais hidrofóbicos, mais resistentes a água. Por apresentar natureza predominantemente apolar, o óleo essencial contribui para o aumento da hidrofobicidade do filme, além de interagir com os grupos hidroxila do amido por meio

de interações intermoleculares, diminuindo a disponibilidade desses grupos para a formação de ligações de hidrogênio com moléculas de água.

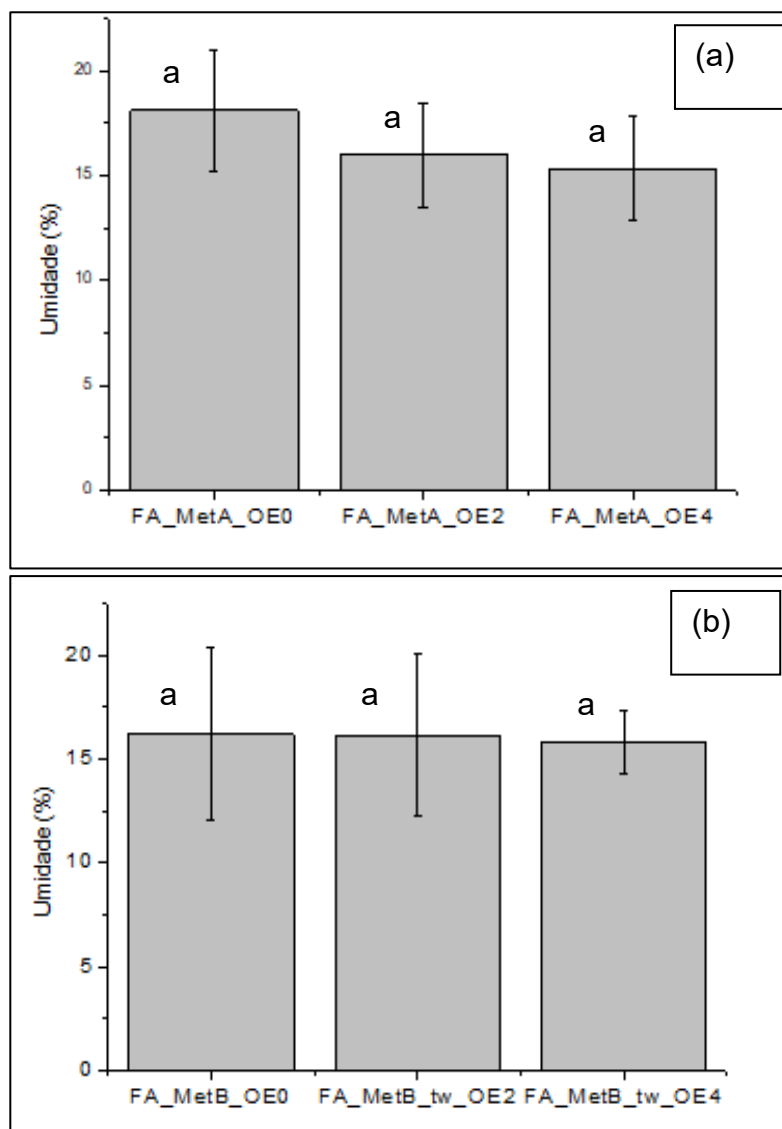
Como consequência, observa-se menor afinidade por água e maior resistência à umidade. Ademais, o método de incorporação pode influenciar esse comportamento, uma vez que a presença de tween, por seu caráter anfifílico e hidrofílico, pode aumentar a retenção de água na matriz ou favorecer maior dispersão do óleo na fase aquosa, alterando o equilíbrio entre as regiões hidrofóbicas e hidrofílicas do filme. A composição e a forma de incorporação dos componentes apresentam papel determinante nas propriedades de interação com a água.

Na metodologia A, a ausência do surfactante favorece maior predominância das interações hidrofóbicas no sistema, uma vez que o óleo essencial tende a apresentar menor afinidade com a fase aquosa da matriz polimérica. Como consequência, pode ocorrer menor retenção de água, possivelmente associada também a uma dispersão menos homogênea do óleo essencial, o que pode resultar em uma matriz menos capaz de reter moléculas de água. Além disso, a menor interação entre os componentes pode levar à formação de regiões mais hidrofóbicas, contribuindo para a redução do teor de umidade dos filmes (Hafsa *et al.*, 2016).

Por outro lado, na metodologia B, a presença do surfactante tween atua reduzindo a tensão interfacial das fases, favorecendo a formação de emulsões mais estáveis. Esse efeito contribui para uma melhor dispersão do óleo essencial na matriz aquosa e aumenta a interação com a água, resultando em maior retenção de umidade nos filmes. Ademais, a presença do surfactante pode intensificar a capacidade de ligação da água por meio de interações intermoleculares, justificando os maiores teores de umidade observados (Hafsa *et al.*, 2016).

Na literatura o teor de umidade dos filmes varia de uma faixa próximo à observada neste estudo. Song *et al.* (2022), relataram valor de 14,87%, enquanto Bhatia *et al.* (2025) encontraram teores de 16 e 21%. De modo semelhante, Muhlen (2023) reportou valores entre 14 e 16%. Esses resultados demonstram que os teores de umidade obtidos para os filmes produzidos pelas duas metodologias testadas neste trabalho estão em concordância com os dados descritos na literatura.

Figura 15 – Umidade dos filmes preparados a partir da (a) metodologia A e (b) metodologia B



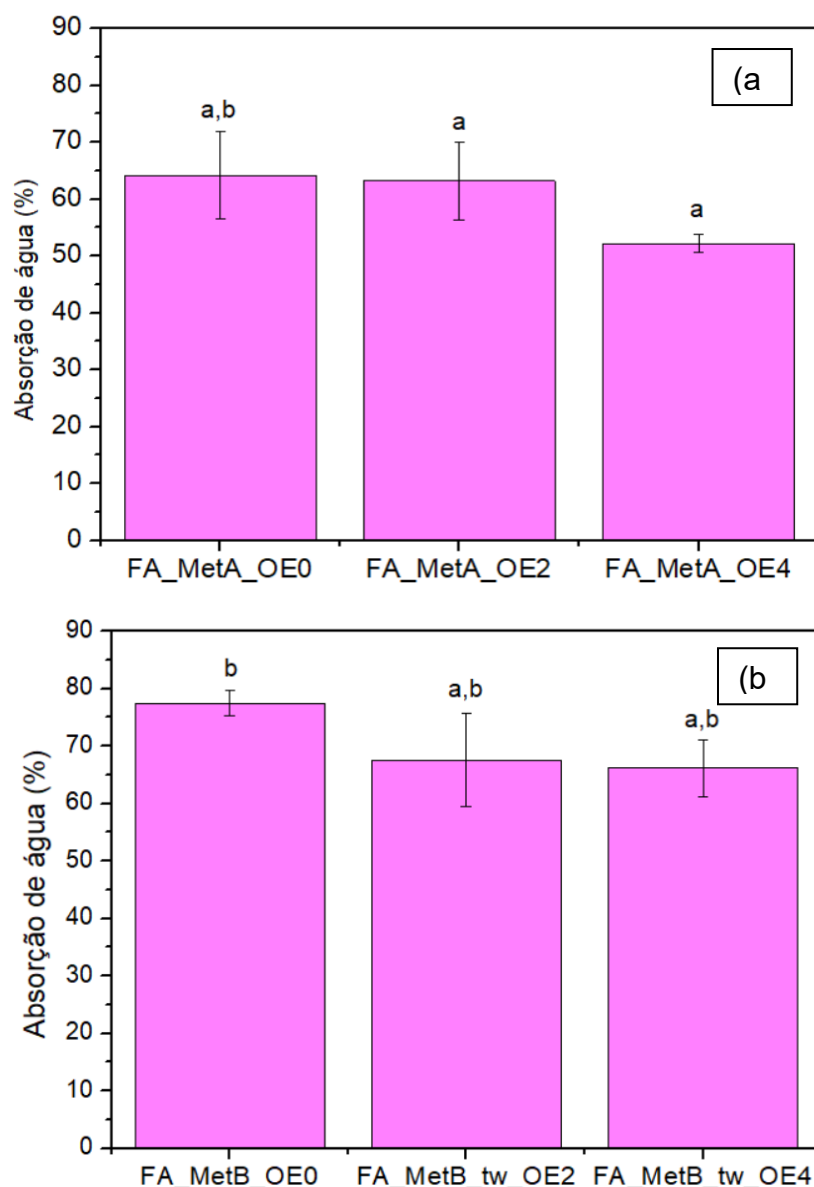
\*Amostras com as mesmas letras não apresentam diferença significativa entre si (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

### 4.3.3 Absorção de água

O estudo da absorção de água tem sua importância pois afeta as propriedades de barreira, as propriedades mecânicas e a resistência bacteriana das amostras (Sanhawong *et al.*, 2017). Analisando os dados obtidos na Figura 16, o filme FA\_MetA\_OE4 apresentou o melhor resultado no teste de absorção de água (52,20%), indicando que o filme com o maior percentual de óleo essencial, nesse método, apresenta menor probabilidade de penetração à água, pelo fato do filme com maior concentração de óleo essencial repelir a água em razão da polaridade. Segundo Martins *et al.* (2021), a incorporação de óleo essencial aumenta a hidrofobia da matriz

polimérica dos filmes. Esse resultado justifica-se pelo fato de que os compostos hidrofóbicos do óleo se dispersam no filme, criando barreiras dificultando a passagem de água, diminuindo assim a interação das moléculas de água e os grupos hidrofílicos do amido, obtendo uma menor absorção de água (Ardjoum *et al.*, 2023).

Figura 16 – Absorção de água para os filmes preparados a partir da (a) metodologia A e (b) metodologia B



\*Amostras com as mesmas letras não apresentam diferença significativa entre si (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

O filme FA\_MetB\_OE0 absorveu mais água (77,47%). Esse resultado justifica-se pela formulação do filme branco, com ausência de óleo essencial, tornando-se mais polar, atraindo assim as moléculas de água para o filme. De acordo com a literatura,

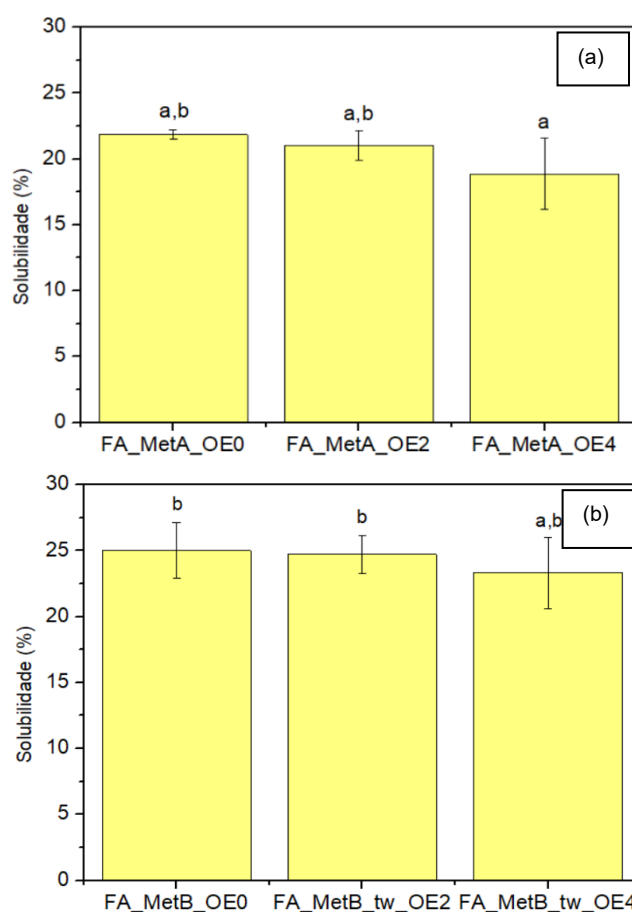
os filmes contendo óleo essencial absorvem menos quantidade de água (Martins *et al.* 2021), ou seja, o aumento da quantidade de concentração de óleo essencial de melaleuca nas amostras reduzem índices de inchaço nos filmes (Liu *et al.*, 2020).

A análise estatística mostra que os melhores resultados foram observados para os filmes na metodologia A, contendo óleo essencial, que apresentaram valores significativamente menores que a amostra controle (FA\_MetB\_OE0) preparada com o surfactante tween 80.

#### 4.3.4 Solubilidade em água

Com a finalidade de embalar alimentos com alta taxa de umidade, recomenda-se embalagens com baixa solubilidade em água, a fim de que a embalagem proteja o alimento e não se degrade em meio aquoso (Martins *et al.*, 2021). A Figura 17 apresenta os resultados da solubilidade em água dos filmes estudados.

Figura 17 – Solubilidade para os filmes preparados a partir da (a) metodologia A e (b) metodologia B



\*Amostras com as mesmas letras não apresentam diferença significativa entre si (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ ).

Os dados obtidos experimentalmente variaram de 18,9% a 25%. Os filmes desenvolvidos por Mulhen (2023) apresentaram valores de solubilidade em água de 30%, ou seja, os filmes produzidos neste estudo apresentam resultados satisfatórios de solubilidade. O filme FA\_MetA\_OE4, possuindo 4% de OEM preparado na metodologia A, resultou no menor valor médio de solubilidade em água, de ~ 18,9%, apresentando redução significativa em relação aos filmes FA\_MetB\_OE0 e FA\_MetB\_tw\_OE2, que apresentaram valores médios de solubilidade em água de ~ 25%. O filme FA\_MetB\_tw\_OE4 apresentou menor percentual na metodologia B, com 23,3%. Esses resultados justificam-se pela alteração da hidrofiliicidade do filme, por ser apolar o óleo essencial é praticamente insolúvel em água, e quando incorporado no filme ele tem a capacidade de repelir a água, diminuindo o percentual de solubilidade da amostra.

#### **4.3.5 Análise termogravimétrica (TGA)**

Na análise termogravimétrica, as curvas indicam a perda de massa da amostra em relação as temperaturas de degradação (Song *et al.*, 2022). A Figura 18 apresenta os resultados obtidos na análise termogravimétrica para os filmes produzidos a partir da metodologia A (a) e metodologia B (b).

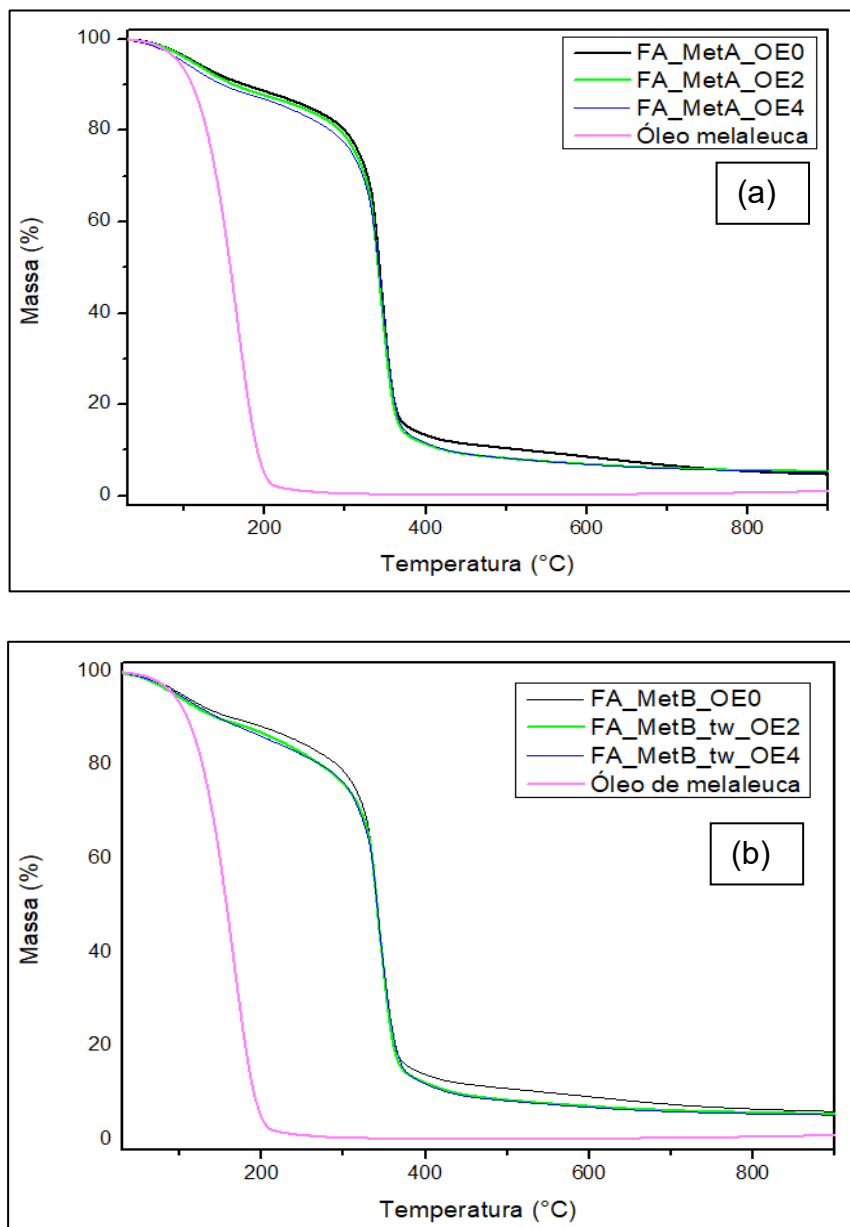
O primeiro evento de perda de massa aconteceu por volta dos 100 °C, devido a evaporação de água e componentes voláteis. De acordo com Roy e Rhim (2021), a primeira alteração de massa observa-se entre 60 °C e 120 °C devido à evaporação da umidade absorvida.

A perda de massa do filme em torno de 150 °C explica-se pela evaporação do óleo essencial de melaleuca nas amostras das duas metodologias. Song *et al.* (2022), atribuiu essa perda à volatilização do óleo essencial de melaleuca e pela vaporização da umidade nas amostras. No estudo de Roy e Rhim (2021), a degradação dos plastificantes ocorreu em torno de 240 °C a 260 °C.

Um evento de perda de massa ocorreu em torno de 270 °C e 370 °C, pela degradação da cadeia principal do polímero (Xiao *et al.* 2022), e em torno de 800 °C ocorreu a degradação de todo o material analisado. Em geral, os filmes apresentaram estabilidade térmica adequada, semelhante aos resultados do estudo de Soni *et al.* (2016), que avaliaram filmes bionanocompósitos de quitosana incorporados com nanofibras de celulose oxidadas por tempo, evidenciando que a estabilidade térmica

pode ser atribuída à interação entre a matriz polimérica e os reforços estruturais, independente da presença de óleos essenciais.

Figura 18 – TGA dos filmes preparados a partir da (a) metodologia A e (b) metodologia B



A Tabela 7 apresenta os resultados extraídos da curva de TGA e da derivada da curva de TGA (DTG). Na temperatura em que ocorre 10% de perda de massa, as maiores temperaturas de degradação correspondem ao filme FA\_MetA\_OE0, sem percentual de óleo essencial de melaleuca. A incorporação de óleo essencial, assim como a metodologia B, reduzem a estabilidade térmica em baixas temperaturas. Em relação a presença do óleo essencial essa redução é explicada pelo fato do óleo

apresentar a temperatura de pico, ou seja, a temperatura em que ocorre a máxima velocidade de degradação, em aproximadamente 164 °C, sendo responsável pela redução da estabilidade térmica do filme. A partir de 50% de perda de massa, e na  $T_{pico}$ , a temperatura dos filmes se mantém próximas, tendo o filme FA\_MetA\_OE0 apresentado a maior temperatura nessa etapa. A partir de 200 °C o óleo essencial apresenta praticamente 0,7% de massa residual, não interferindo mais na temperatura de degradação dos filmes a partir desse valor.

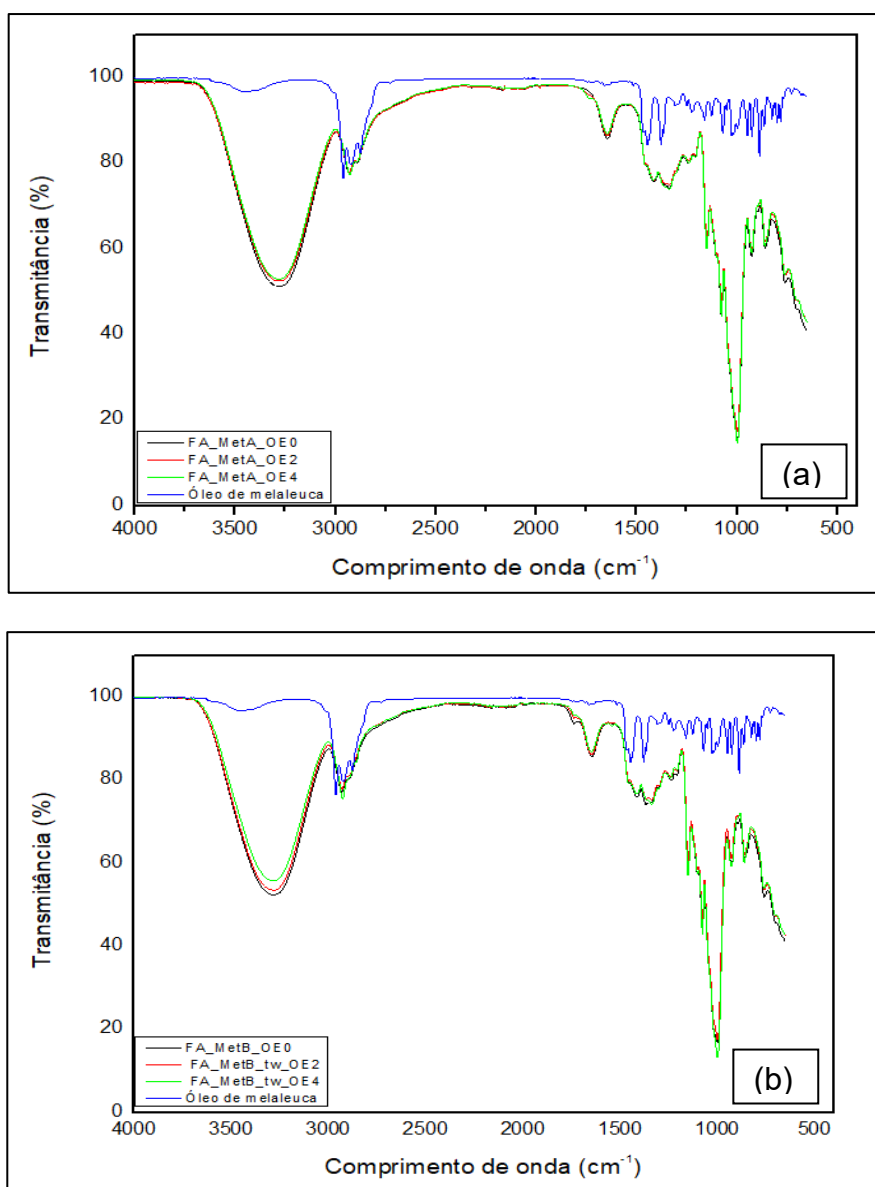
Tabela 7 – Dados extraídos das curvas de TGA e DTG

Amostra	$T_{10\%}$	$T_{50\%}$	$T_{pico}$	Massa residual (%)
Óleo de melaleuca	109,8	157,2	164,3	0,7
FA_MetA_OE0	176,5	342,5	343,9	5,4
FA_MetA_OE2	162,7	340,8	342,8	5,7
FA_MetA_OE4	148,2	341,8	345,7	5,5
FA_MetB_OE0	169,0	340,8	340,6	6,6
FA_MetB_tw_OE2	149,8	340,8	342,7	5,9
FA_MetB_tw_OE4	150,5	341,1	343,9	5,6

#### 4.3.6 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier permite identificar a composição química dos filmes, por meio da absorção de radiação infravermelha em comprimentos de onda variados. A Figura 19 apresenta as bandas de transmitância para os filmes preparados na metodologia A e B, e para o óleo essencial. A estrutura química do amido de milho é  $C_6H_{10}O_6$ , a do sorbitol é  $C_6H_{14}O_6$  e a do glicerol é  $C_3H_8O_3$  (Blume *et al.*, 2023). As principais bandas nos filmes de amido são caracterizadas pelos grupos funcionais do amido de milho. O FTIR apresentou uma banda intensa em torno de  $3300\text{ cm}^{-1}$ , devido as vibrações de estiramento das ligações de O-H, que indicam a presença de ligações de hidrogênio nos filmes. Essa banda também é intensificada pela presença de água e dos plastificantes, como o sorbitol e o glicerol (Luchese, 2018). A banda de  $3360\text{ cm}^{-1}$  também representa a ligação da hidroxila nos derivados terpênicos do óleo essencial de melaleuca (Sathiyaseelan *et al.*, 2021).

Figura 19 – FTIR dos filmes preparados a partir da (a) metodologia A e (b) metodologia B



As mudanças ocorridas na Figura 19 do FTIR na metodologia A não ficaram claras no espectro, talvez em função de sobreposição com as bandas já presentes nos filmes, e devido à baixa quantidade de óleo incorporado na amostra. Com a incorporação do óleo essencial de melaleuca, há a formação de novas ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila (OH<sup>-</sup>) e do terpinen-4-ol. Como a hidroxila é consumida, uma redução é ligeiramente observada principalmente na faixa de 3300 a 3360 cm<sup>-1</sup>. Na onda de 1653 cm<sup>-1</sup>, observa-se uma absorção característica associada à deformação da água (H-O-H), presente em materiais hidrofílicos como o amido. A redução da intensidade dessa banda com a adição do OEM pode estar relacionada à diminuição da interação

do material com a umidade. Já na região entre 1446 e 1357  $\text{cm}^{-1}$ , nota-se vibrações atribuídas aos grupos de  $\text{CH}_2$  (Cortez *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2019).

Comparando as duas metodologias, nota-se pouca diferença no FTIR, isso devido a composição semelhante, diferenciando-se pela presença do surfactante tween 80 na metodologia B. Segundo Cazon *et al.* (2021), essas alterações podem estar associadas pela ligação de hidrogênio nos compostos contendo OEM, terpenóide-4-ol.

A Figura 20 mostra o FTIR aproximando algumas regiões específicas do espectro dos filmes de amido preparados a partir da metodologia A, e a Figura 21 o FTIR dos filmes de amido preparados a partir da metodologia B. Os espectros apresentam muita similaridade, por ter uma formulação parecida. Observa-se a banda característica entre 3300 a 3400  $\text{cm}^{-1}$ , correspondem ao estiramento do grupo OH (Song *et al.*, 2022).

Nas Figuras 20-b e 21-b, observa-se a banda em torno de 1650  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída principalmente à presença de água adsorvida na matriz polimérica, associada às vibrações de deformação angular das ligações O-H. A intensidade dessa banda pode estar diretamente relacionada ao teor de umidade dos filmes, bem como às interações intermoleculares estabelecidas, especialmente por meio de ligações do hidrogênio entre água, amido e demais componentes do filme (Le *et al.*, 2025; Singh *et al.*, 2023).

O alongamento de ligação de C-O, característico da estrutura do amido, é evidenciado em 1024  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 20-c e 21-c), estando associado às vibrações de estiramento dos grupos C-O-C e C-O presentes nos polissacarídeos (Song *et al.*, 2022). Já na região de 2960  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 20-d e 21-d), observa-se uma banda relacionada às vibrações de estiramento das ligações C-H dos grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ , atribuídas à presença de compostos orgânicos do óleo essencial de melaleuca, indicando sua incorporação na matriz polimérica (Johnson *et al.*, 2022).

A banda observada em torno de 1476  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 20-e e 21-f) está associada às vibrações de deformação dos grupos  $\text{CH}_2$ , reforçando a contribuição dos compostos orgânicos presentes no óleo essencial (Johnson *et al.*, 2022). Além disso, a banda originalmente próxima de 1048  $\text{cm}^{-1}$  (f), apresentou deslocamento para números de onda mais baixos, o que pode ser atribuído ao processo de gelatinização do amido,

que promove a reorganização estrutural e alteração nas interações intermoleculares, especialmente nas regiões amorfas do polímero (Souza *et al.*, 2020).

Figura 20 – FTIR aproximado da metodologia A

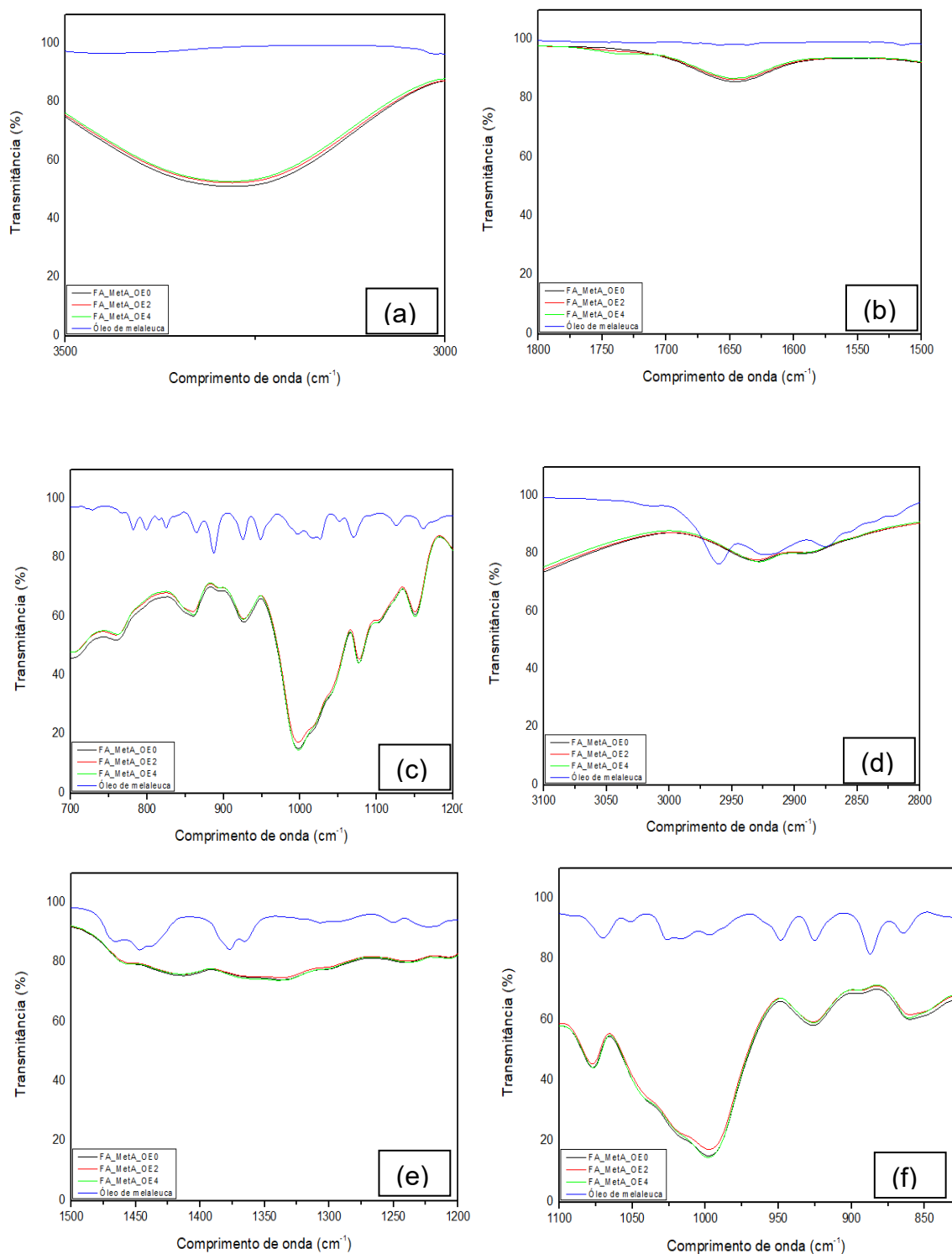
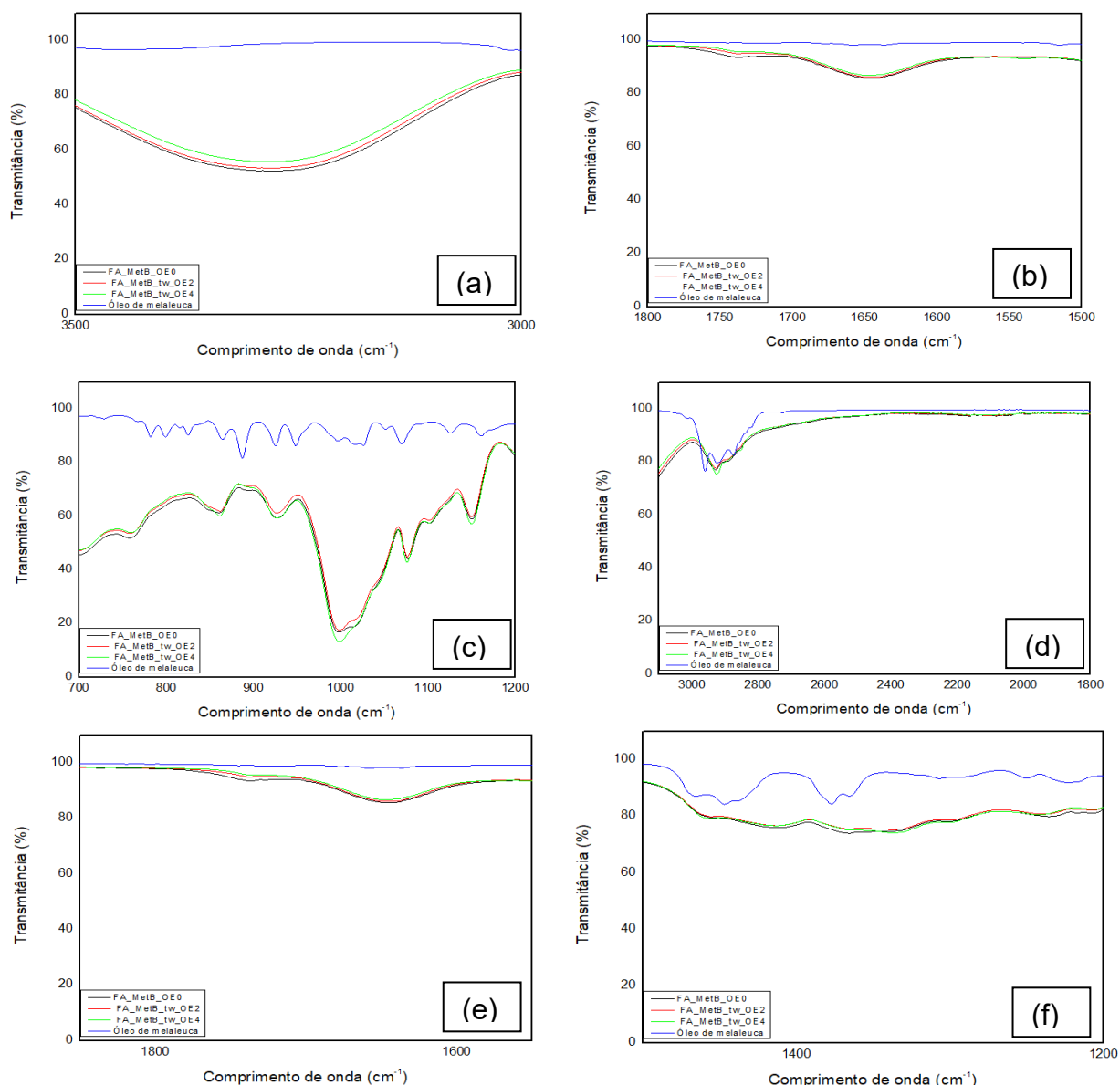


Figura 21 – FTIR aproximado da metodologia B



Adicionalmente, a banda em torno de  $1274\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída às vibrações de estiramento das ligações C-O do composto 1,8 cineol, um dos principais constituintes do óleo essencial de melaleuca (Sathiyaseelan *et al.*, 2021). As bandas localizadas em  $1420$  e  $1338\text{ cm}^{-1}$ , estão relacionadas ao terpinen-4-ol, outro composto majoritário do óleo essencial de melaleuca, indicando a presença desses constituintes após a incorporação na matriz (Santos *et al.*, 2019).

De modo geral, não foram observadas diferenças significativas nas posições das bandas entre os filmes com diferentes concentrações de óleo essencial de melaleuca, sugerindo a ausência de reações químicas relevantes e indicando que a

incorporação do OEM ocorreu predominantemente por meio de interações físicas. Esse comportamento reforça que a estrutura química do amido foi preservada, com o óleo essencial distribuído na matriz polimérica sem provocar alterações estruturais marcantes.

As Figuras 22 e 23 apresentam o espectro de FTIR obtidos em três pontos distintos de cada amostra, a fim de verificar a homogeneidade dos filmes.

Figura 22 – FTIR do filme (a) FA\_MetA\_OE0, (b) FA\_MetA\_OE2 e (c) FA\_MetA\_OE4

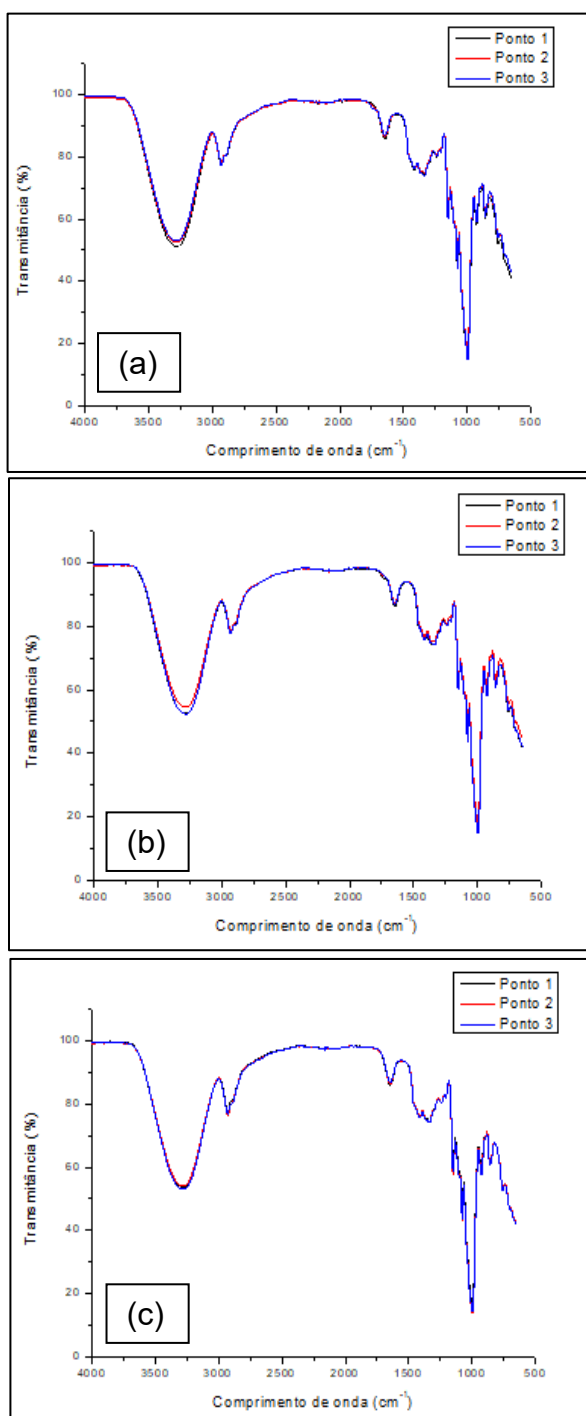
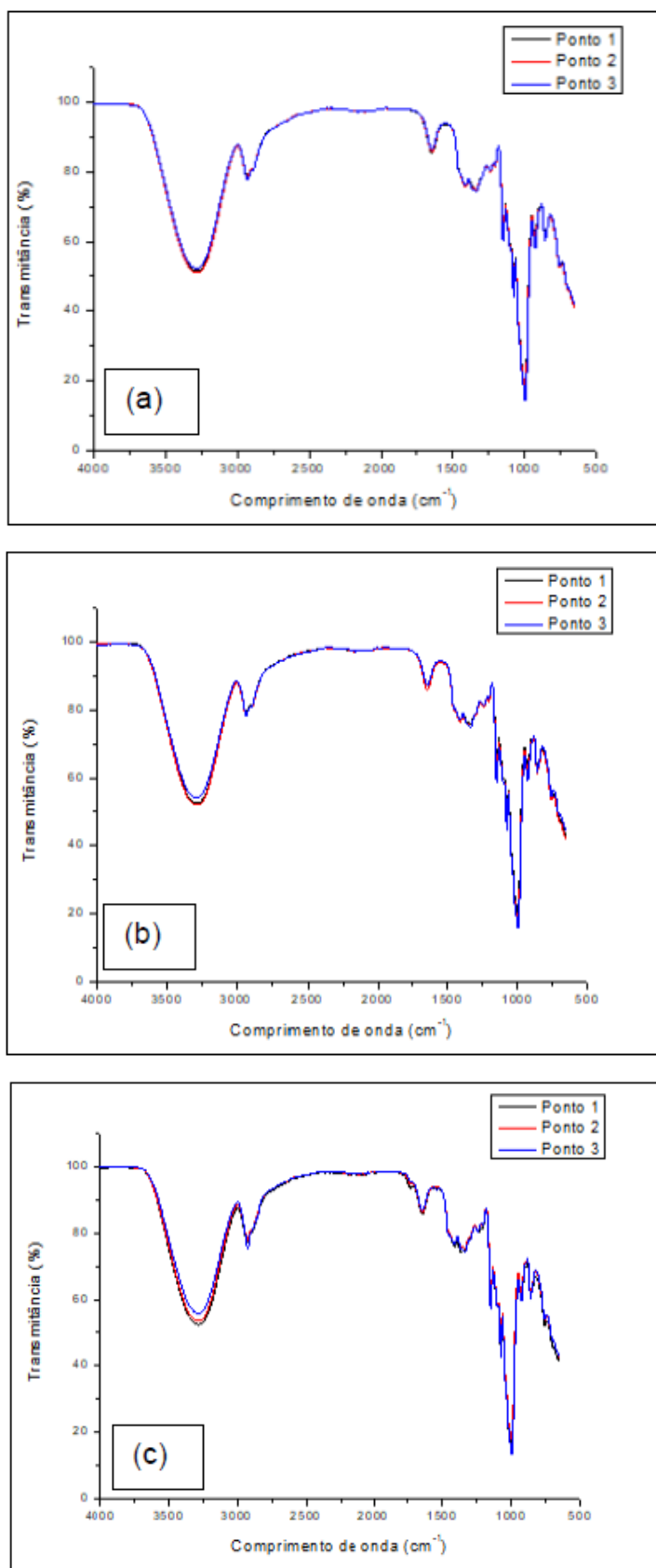


Figura 23 – FTIR do filme (a) FA\_MetB\_OE0, (b) FA\_MetB\_tw\_OE2 e (c) FA\_MetB\_tw\_OE4

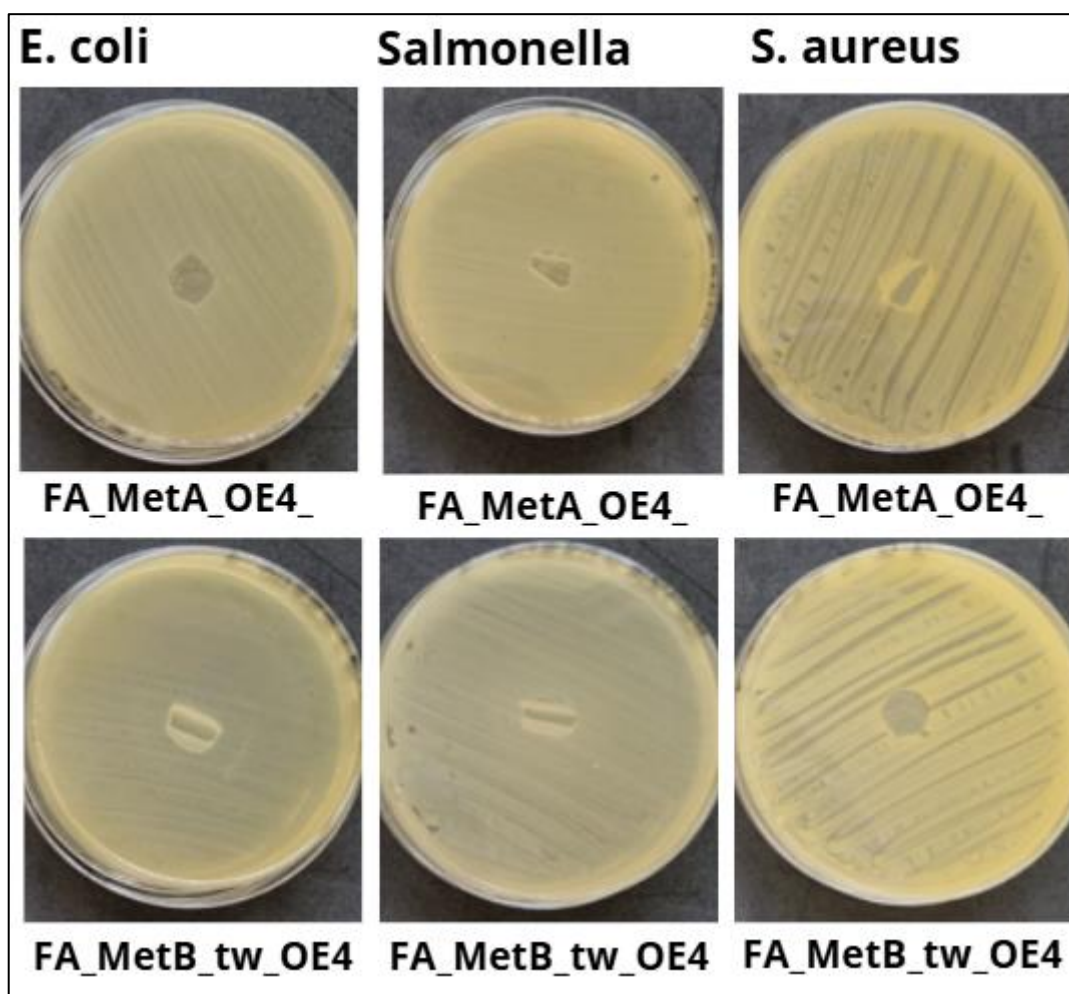


Observa-se baixa variação entre os espectros analisados, evidenciando uma distribuição uniforme dos componentes ao longo da matriz polimérica. Esse resultado está em concordância com a análise visual dos filmes, que caracterizou os filmes com aspecto homogêneo, sugerindo que o processo de obtenção foi eficiente na dispersão dos constituintes.

#### 4.3.7 Caracterização microbiológica

A Figura 24 mostra que não houve formação de halo de inibição nas amostras estudadas. Desta forma, os resultados indicam que nenhuma das metodologias empregadas (A e B) foi capaz de inibir o crescimento das bactérias *E. coli*, *Salmonella*, e *S. aureus*.

Figura 24 – Resultados da análise microbiológica



Esses resultados podem ser atribuídos a diferentes fatores. Na metodologia B, a interação do surfactante com os compostos bioativos do óleo essencial pode ter reduzido sua disponibilidade na matriz polimérica, comprometendo a atividade antimicrobiana (Razavi *et al.* 2015). Além disso, a concentração de OE incorporada aos filmes pode ter sido insuficiente do óleo essencial para atingir a CIM no sistema sólido (Vargas *et al.* 2011). Soma-se a isso a possibilidade de volatilização do OEM. Durante o processamento térmico e a etapa de secagem dos filmes, parte significativa dos compostos bioativos pode ser perdida por evaporação ou sofrer degradação térmica, reduzindo a quantidade de substâncias ativas no material final (Cháfer *et al.* 2012). Dessa forma, mesmo que a formulação inicial contenha 2% e 4% de OEM, a concentração efetiva após o processamento pode ter sido menor.

Para a metodologia A, o cisalhamento pode ter favorecido a imobilização do óleo essencial na matriz polimérica, reduzindo sua migração para o meio e, portanto, sua eficácia antimicrobiana. Ademais, devem ser consideradas as características do óleo essencial de melaleuca, cuja natureza volátil e suscetível à degradação pode limitar sua atividade quando incorporado em filmes poliméricos.

Embora a concentração de 2% e 4% de óleo essencial de melaleuca possam ser consideradas relativamente elevadas em formulações de filmes, isso não garante que a fração efetivamente disponível do OE seja suficiente para atingir a concentração inibitória mínima no sistema sólido. Considerando que o método de difusão em ágar depende diretamente da capacidade de difusão dos compostos antimicrobianos. Compostos hidrofóbicos, como os presentes no óleo essencial de melaleuca, apresentam baixa difusividade no ágar, o que dificulta a formação de zonas de inibição visíveis, mesmo quando possuem atividade antimicrobiana em outros sistemas. Diferentemente de ensaios em meio líquido, nos quais o óleo essencial está mais livre e disperso, em matrizes poliméricas ocorre retenção dos compostos ativos, reduzindo sua difusão (Vargas *et al.*, 2011).

Adicionalmente, ressalta-se uma limitação experimental relacionada à dificuldade de manutenção das amostras em contato adequado com o meio de cultura sólido, uma vez que os filmes apresentaram curvatura durante o ensaio, o que pode ter comprometido a difusão dos compostos ativos no ágar e influenciando nos resultados obtidos.

Além disso, a forte interação dos componentes do OEM (como terpinen-4-ol,  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$ -terpineno) e a matriz de amido de milho pode promover a imobilização desses compostos por meio de interações hidrofóbicas e ligações intermoleculares. Esse fenômeno pode limitar a migração dos agentes antimicrobianos para o meio externo, que é essencial para a formação de halos de inibição (Razavi *et al.* 2015). Em sistemas de filmes poliméricos, a liberação controlada pode ser almejada, porém, quando é restrita, acaba comprometendo a eficácia antimicrobiana.

No trabalho de Song *et al.* (2018), o filme que melhor apresentou o efeito antimicrobiano foi a amostra com 2% de óleo essencial de limão, amido de trigo e milho, isenta de surfactante. Já os filmes de controle, não apresentaram nenhum halo de inibição ao redor do disco da amostra. Ruiz-Navajas *et al.* (2013), concluíram que o óleo essencial faz parte da estrutura química do filme e acaba interagindo com o plastificante e o polímero, dificultando a difusão do antimicrobiano, podendo causar a redução da atividade dos compostos ativos do óleo essencial.

No estudo de Sousa *et al.* (2023), eles desenvolveram filmes de amido de trigo com óleo essencial de eucalipto, numa concentração de 1,5%. Nesse trabalho, nenhum filme obteve inibição das bactérias *E. coli* e *S.aureus*. No trabalho de Souza (2024), os filmes não apresentaram atividade no teste de difusão em ágar contra *P.aeruginosa* e *S.epidermidis*. Nos filmes produzidos por Mahmood *et al.* (2021), contendo hidrogel com goma gelana e óleo essencial de melaleuca, também obteve uma menor zona de inibição, contra *E. coli*, foi limitada em função da solubilidade do óleo no ágar. Em contrapartida, os filmes de Souza *et al.* (2020), com 15% óleo essencial de carvacrol, amido e argila montmorilonita inibiram completamente a *E. coli*, no entanto, os filmes contendo 3 e 6% de óleo essencial não apresentaram inibição.

Por fim, aspectos estruturais do filme, como espessura, grau de gelatinização do amido e distribuição do OE também influenciam a liberação dos compostos ativos. Filmes mais densos ou com distribuição heterogênea do óleo podem atuar como barreira à difusão, reduzindo ainda mais a eficácia antimicrobiana. Dessa forma, a ausência de atividade antimicrobiana, mesmo em concentrações de 2% e 4% de OEM, pode ser atribuída principalmente à baixa disponibilidade e difusão dos compostos ativos no meio, às perdas durante o processo e às interações com a matriz polimérica, e não necessariamente à ineficácia do óleo essencial de melaleuca.

## 5 CONCLUSÃO

Filmes à base de amido de milho plastificados com glicerol e sorbitol foram desenvolvidos com diferentes concentrações de óleo essencial de melaleuca (2% e 4%) por duas metodologias (A e B). As formulações apresentaram satisfatórias propriedades químicas, térmicas e estruturais, resultando em filmes homogêneos, sem rupturas e com espessura adequada para aplicações em embalagens. Os filmes da metodologia A apresentaram maior flexibilidade, com menor espessura e aparência semelhante à da metodologia B. Os filmes FA\_MetA\_OE2 e FA\_MetB\_tw\_OE2 demonstraram características visuais mais nítidas, homogêneas, com aspecto mais claro e mais transparente em comparação com as demais amostras. Os filmes da metodologia B mostraram-se mais espessos e opacos. A metodologia A, com o filme FA\_MetA\_OE4 mostrou melhor desempenho geral, especialmente nas análises de umidade, solubilidade e absorção de água, indicando uma tendência de redução da interação com água para o maior teor de óleo essencial estudado.

A análise térmica evidenciou que filmes com 4% de óleo essencial apresentaram maior estabilidade térmica e maiores temperaturas de pico de degradação. O FTIR confirmou a incorporação do óleo essencial e a manutenção da estrutura química do amido.

Embora os resultados físico-químicos tenham se mostrado satisfatórios, nenhuma formulação apresentou atividade antimicrobiana efetiva contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*, provavelmente devido à baixa liberação do óleo nos filmes, embora os valores de CIM e CBM encontrados na literatura indiquem potencial antibacteriano do óleo de melaleuca. A ausência da atividade antimicrobiana nos filmes pode estar associada à diversos fatores. Na metodologia A, o cisalhamento durante o processamento pode ter favorecido a dispersão e, conseqüentemente, a imobilização do OEM no amido, restringindo sua migração para o meio externo. Em relação à metodologia B, a presença do surfactante pode ter promovido interações com os compostos bioativos do óleo essencial de melaleuca, reduzindo sua difusão na matriz polimérica, comprometendo sua ação antimicrobiana. Além disso, a elevada volatilidade e propensão à degradação térmica dos compostos ativos do óleo essencial de melaleuca pode ter interferido nos resultados da análise.

Assim, os filmes contendo OEM demonstram potencial para uso em embalagens biodegradáveis e ativas, especialmente pela melhoria nas propriedades físicas, embora novos ajustes sejam necessários para garantir atividade antimicrobiana. A metodologia A se destacou, indicando um caminho promissor para futuros desenvolvimentos visando aplicações sustentáveis sem o uso de surfactantes, na área de embalagens.

### **5.1 Contribuição do trabalho**

O presente estudo contribuiu para o ramo de embalagens ativas à base de amido de milho, ao comparar duas metodologias para a incorporação de óleo essencial de melaleuca.

Através das análises realizadas, foi possível compreender a influência das duas metodologias em relação às propriedades físicas, térmicas, químicas e microbiológicas. Os resultados obtidos mostram que os filmes produzidos pela metodologia A são mais promissores para o desenvolvimento de embalagens ativas para alimentos, destacando-se o filme FA\_MetA\_OE4 como o de melhor desempenho, sem a necessidade da utilização de surfactantes.

### **5.2 Possibilidades de trabalhos futuros**

Em trabalhos futuros, sugere-se a exploração de outros óleos essenciais, a fim de verificar possíveis melhorias na atividade antimicrobiana. Recomenda-se, ainda, a avaliação de diferentes metodologias para a incorporação de óleo essencial, tais como emulsificação com surfactantes, nanoemulsificação, encapsulação e incorporação direta na matriz polimérica, visando à determinação das propriedades antimicrobianas. Adicionalmente, propõe-se a incorporação de outras substâncias aos filmes, como agentes plastificantes, nanopartículas ou compostos bioativos, com o objetivo de potencializar o desempenho funcional dos materiais. Por fim, recomenda-se a realização de análises complementares, a microscopia eletrônica de varredura (MEV), para uma investigação mais aprofundada da superfície dos filmes.

## REFERÊNCIAS

ALMADA L.F.A., FIRMO M.J.N., ARRUDA T.S., JÚNIOR B.R.C.L. Antioxidant packaging: a strategy for the preservation of fatty foods. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 11, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i11.34112

ALMASI, H., JAHANBAKHS, M. O., SALEH, A. A review on techniques utilized for design of controlled release food active packaging. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–21, 2020.

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

ALTUNA L., HERRERA M.L., FORESTI M.L., Synthesis and characterization of octenyl succinic anhydride modified starches for food applications. A review of recent literature, **Food Hydrocoll.** v.80, p. 97–110, 2018. <https://doi.org/10.1016/J.>

ALVES, A. C. de S. B. **Estudo da influência do óleo essencial de alecrim nas propriedades de poli-(3-hidroxibutirato)/poliestilenoglicol.** Dissertação de Mestrado Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

ALVES, V. D., MALI, S., BELÉIA, A., & GROSSMANN, M. V. E. Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 941-946, 2007.

ARAÚJO-FARRO, P. C.; PODADERA, G.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch. **Carbohydrate Polymers.** v.81, p. 839, 2010.

ARDJOUR, N; CHIBANI, N; SHANKAR, S; SALMIERI, S; DJIDJELLI, H; LACROIX, M. Incorporation of *Thymus vulgaris* essential oil and ethanolic extract of propolis improved the antibacterial, barrier and mechanical properties of corn starch-based

films. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 224, p. 578-583, 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.146>

ASTM INTERNATIONAL. ASTM D1003-13. *Standard test method for haze and luminous transmittance of transparent plastics*. West Conshohocken, PA, 2013.

AVARO, M.R.A, PAN, Z., YOSHIDA, T., WADA, Y. Dois métodos alternativos para prever o teor de amilose em grãos de arroz usando valores triestímulo CIE Lab e desenvolvendo uma paleta de cores específica para solução de complexo amido-iodo. **Plant Production Science** , v.14 (2), p.164–168, 2011.[doi.org/10.1626/pps.14.164](https://doi.org/10.1626/pps.14.164)

BALDOUX, D. **O Grande Manual da Aromaterapia de Dominique Baldoux**. Belo Horizonte: Editora Lazslo. 2018.

BHARTI S.K., PATHAK V., ALAM T., ARYA, A., SINGH, V. K., VERMA, A. K., RAJKUMAR, V. et al. Starch bio-based composite active edible film functionalized with *Carum carvi L.* essential oil: antimicrobial, rheological, physic-mechanical and optical attributes. **J Food Sci Technol.** v.59(2), p.456-466, 2022. DOI:10.1007/s13197-021-05028-1.

BASIAK E, Lenart A, DEBEAUFORT F. How glycerol and water contents affect the structural and functional properties of starch based edible films. **Polymers**. 2018. <https://doi.org/10.3390/polym10040412>

BASHIR, O., TAWHEED A., SYED Z. H, NAIK , H.R., GULDEN G., ABDUL W. W., SOBIYA M., MALIK A.R., FEHIM J. W., CHARALAMPOS P. Development, characterization and use of rosemary essential oil loaded water-chestnut starch based nanoemulsion coatings for enhancing post-harvest quality of apples var. Golden delicious, **Current Research in Food Science**, v. 7, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2023.100570>.

BHATIA S., JAWAD M., AL-HARRASII A., SHAH Y.A., KHAN T.S, KOCA E., AYDEMIR L.Y, THEKKUDEN D.T, IMAM F., AL-HARBI N. Development and functional characterization of melissa essential oil fortified k-carrageenan-based active packaging films. **Journal of Agriculture and Food Research**. V. 21, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.101870>.

BERTOF, E. Understanding Starch Structure: Recent Progress. **Agronomy**, [s. l.], v. 7, ed. 3, 2017. DOI <https://doi.org/10.3390/agronomy7030056>.

BLUME, W.R., BELTRAMI, L.V.R., FRANSCISQUETTI, E.L., ZATTERA A.J., HANSEN B., CATTO A.L., BORSOI C. Efeitos de diferentes plastificantes nas propriedades físico-químicas de filmes de amido de milho reforçados com nanocristais de celulose. **Braz. J. Chem.** v. 41, p. 371-383, 2023. <https://doi.org/10.1007/s43153-023-00340-z>

BOBBIO, P. A.; BOBBI, F. O. Química do Processamento de Alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela Editora e Livraria Ltda, p. 143, 2001.

BOHNENBERGER, Nayara. **Desenvolvimento de espumas ativas de amido de mandioca, através de diferentes métodos de incorporação de óleo essencial de tomilho**. 2024. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia e Engenharia de Materiais. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Feliz, 2024.

BRASIL. **Perdas e desperdício de alimentos**. 2018. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/perdas-e-desperdicio-de-alimentos>>. Acesso em: 20 de outubro de 2025.

CAI C., MA R., DUAN M., DENG Y., LIU T., LU D. Efeito de filme de amido contendo microcápsulas de óleo essencial de tomilho na atividade físico-química da manga, **LWT Food Sci. Tecnologia**. v. 131, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109700>.

CALLISTER J., WILLIAM D. **Ciência e engenharia de materiais – uma introdução**. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2016.

CANO A., JIMÉNEZ A., CHÁFER M., GÓNZALEZ C., CHIRALT A.,  
Effect of amylose: amylopectin ratio and rice bran addition on starch films propertie.  
**Carbohydrate Polymers**, v. 111, 2014, p. 543-555, ISSN 0144-8617,  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.075>.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 1., p. 50-62, 2006.

CAZON, P., ANTONIEWSKA, A., RUTKOWSKA, J., VAZQUEZ, M. Avaliação de filmes antioxidantes de fácil remoção de quitosana com óleo essencial *de Melaleuca alternifolia* . **Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas**, v. 186, p. 365–376, 2021.

CHÁFER, M.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Physical and antimicrobial properties of chitosan–gelatin films containing essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 1–9, 2012.

CHEN, J.; CHEN, F.; MENG, Y.; WANG, S.; LONG Z. Oxidized microcrystalline cellulose improve thermoplastic starch-based composite films: Thermal, mechanical and water-solubility properties. **Polymer**, [s. l.], v. 168, p. 228-235, 2019. DOI <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2019.02.026>.

CHEN, S.; WU, M.; WANG, C.; YAN, S.; LU, P.; WANG, S. Developed Chitosan/Oregano Essential Oil Biocomposite Packaging Film Enhanced by Cellulose Nanofibril. **Polymers**. v. 12, p. 1780, 2020.  
<https://doi.org/10.3390/polym12081780>

CHEN, W., MA, S., WANG, Q., MCCLEMENTS, D. J., LIU, X., NGAI, T., LIU, F. Fortification of edible films with bioactive agents: A review of their formation,

properties, and application in food preservation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62(18), p. 5029–5055, 2022.

CHEN, W. C., HE L., TIAN Y., XIE J. Improving the preparation process to enhance the retention of cinnamon essential oil in thermoplastic starch/PBAT active film and its antimicrobial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 230, 2025.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.120990>.

CORTEZ, I.C., Cunha R.S., Prudencio E.R., Luchese R.H., Fernandes L.D., Oliveira R.N. Hidrogeis carregados com óleo essencial de melaleuca: caracterização microestrutural e in vitro. **Revista Iberoamericana de Polímeros**. v. 22, 2021.

CUI, H., BAI, M., LI, C., LIU, R., LIN, L. Fabrication of chitosan nanofibers containing tea tree oil liposomes against *Salmonella* spp. in chicken. **LWT - Food Science and Technology**, v. 96, p. 671–678, 2018.

DINIZ, C. S. **Modificação química de amido termoplástico por extrusão reativa**. Dissertação de Mestrado—Belo Horizonte, MG: Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, 2021.

DONALD, A.M. Understanding starch structure and functionality. In: **Starch in Food: Structure, function and applications**. Boca Raton: CRC Press LLC, p. 156-184, 2004. <https://doi.org/10.1533/9781855739093.1.156>.

FENNEMA, O.R.; DAMORADANI, S.; PARKIN, K.L. **Química de alimentos de Fennema**. 4<sup>a</sup>. ed., Porto Alegre: Artmed, p.900, 2010.

FERREIRA, G. S. FERREIRA, SILVA D. J., ZANATA L., SOUZA G. A, FERREIRA R. R., ROSA D. S.. Antimicrobial cotton wipes functionalized with *Melaleuca alternifolia* Pickering emulsions stabilized with cellulose nanofibrils. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**. v. 3, 2022.  
<https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100208>.

FORINI, S. H. **Estudo da dispersão e incorporação de argilas esmectíticas em plastisol**. Tese (Doutorado em Engenharia) – Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 127, 2008.

FRANÇA, R. A., ROSA, A. C. F. S., BRAZ, C. J. F., BARBOSA, R., ALVES, T. S. Development of mulch films from biodegradable polymer and agro-industrial waste. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 34(1), 2024. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.20230043>

GAO, S.; LIU, G.; LI, J.; CHEN, J.; LI, L.; LI, Z.; ZHANG, X.; ZHANG, S.; THORNE, R. F.; ZHANG S. Antimicrobial Activity of Lemongrass Essential Oil (*Cymbopogon flexuosus*) and Its Active Component Citral Against Dual-Species Biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Candida* Species. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 10, 2020. DOI <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.603858>.

GIOPPO, A.; ZANCANARO V.; BELLAVER E.H. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* frente a isolados multirresistentes. **Biotemas**, Florianópolis, v. 32, n. 3, p. 35–44, 2019.

GRASSI, L. I., BITTENCOURT, V. R., DALLA NORA, F. M. Embalagens ativas como novas abordagens sustentáveis e ambientalmente corretas: uma revisão da literatura. In: 9º Fórum Internacional Ecoinovar, 9. Ed., Santa Maria/RS. **Anais eletrônicos**. Universidade Federal de Santa Maria: 2020.

GRAEBIN, J. T. **Influência de diferentes rotas tecnológicas na incorporação de óleo essencial de tomilho em argila montmorilonita sódica e organolífica**. Feliz: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul Campus Feliz. 2022.

HAFSA M., Smach M., Khedher M.R.B, Harfeddine C.B., Limem K., MajdouHattem B., Rouatbi S. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films

containing Eucalyptus globulus essential oil. **LWT - Food Science and Technology**. v. 68, p. 356–364, 2016.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil and terpinen-4-ol on antimicrobial susceptibility. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 2, p. 909–915, 2012.

HAZRATI, K.Z., SAPUAN, S.M., ZUHRI, M.Y.M., JUMAIDIN, R. Effect of plasticizers on physical, thermal, and tensile properties of thermoplastic films based on Dioscorea hispida starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 185, p. 219-228, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.099>

HERNÁNDEZ-GARCÍA E., VARGAS M., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ C., CHIRALT A. Filmes antimicrobianos biodegradáveis para embalagens de alimentos: Efeito dos antimicrobianos na degradação. **Alimentos**. 2021. <https://doi.org/10.3390/alimentos10061256>

HOU T., SANA S.S., LI H., XING Y., NANDA A., NETALA V.R., ZHANG Z. Óleos essenciais e suas aplicações de atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante: uma revisão, **Food Biosci.** v. 47, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101716>.

ISOTTON, F. S. Desenvolvimento e caracterização de filmes de amido de milho eterificado com plastificante glicerol, sorbitol e poli (álcool vinílico). Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos e Tecnologias). Universidade de Caxias do Sul, 2013.

JAMRÓZ, E. JUSZCZAK, L. KUCHARÉK, M. Development of starch-furcellaran-gelatin films containing tea tree essential oil. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, p. 46754, 2018.

JESUS, E. R.; ELLENSHOR, R. M.; BARIN, C. S. Óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*: otimização do método analítico. **UNOPAR Cient., Ciências Exatas e Tecnológica**. Londrina, v. 6, p. 67-72, 2007. Disponível em:

<https://revista.pgsskroton.com/index.php/exatas/article/view/790/755>. Acesso em: 09 Jan. 2025.

JHA, P. Functional properties of starch-chitosan blend bionanocomposite films for food packaging: the influence of amylose-amylopectin ratios. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, p. 3368-3378, 2021.

<https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-020-04908-2>

JOHNSON, J.B., THANI, P.R., MANI, J.S., COZZOLINO, D., NAIKER, M. Mid-infrared spectroscopy for the rapid quantification of eucalyptus oil adulteration in Australian tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*). **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. V. 283, p.121766, 2022.

<https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121766>.

KAUR, R.; PATHAK, L.; VYAS, P. Biobased polymers of plant and microbial origin and their applications – a review. **Biotechnology for Sustainable Materials**. v. 1, art. 13, 2024.

LE, T.T.U.; NGO, T.G.; HOANG, N.A.; NGUYEN, V.H.; NGUYEN, V.D.; HOANG, L.P.; PHAM, T.D.; TRUONG, T.T. Adsorption characteristics of single and binary mixture of methylene blue and rhodamine B on novel hydrochar derived from lemongrass essential oil distillation residue. **Journal Of Molecular Liquids**, [S.L.], v. 425, p. 127205, 2025. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2025.127205>.

LEE, J.Y.; LEE, J.; KO, S.W.; SON, B.C.; LEE, J.H.; KIM, C.S.; PARK, C.H. Fabrication of Antibacterial Nanofibrous Membrane Infused with Essential Oil Extracted from Tea Tree for Packaging Applications. **Polymers**. v. 12, p. 125, 2020.

<https://doi.org/10.3390/polym12010125>

LICCIARDELLO, F. Packaging, blessing in disguise: Review on its diverse contribution to food sustainability. **Trends in Food Science & Technology**. v. 65, p. 32- 39, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.003>.

LIU H., XIE F., YU L., CHEN L., LI L. Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 1348-1368, 2009.  
<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.07.001>.

LIU J.; WANG Y.; LIU Y.; SHAO S.; ZHENG X.; TANG K. Synergistic effect of nano zinc oxide and tea tree essential oil on the properties of soluble soybean polysaccharide films. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 239, 2023.

LIU, T., WANG J.F., CHI F., TAN Z., LIU, L. Development and Characterization of Novel Active Chitosan Films Containing Fennel and Peppermint Essential Oils. **Coatings**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 936, 2020.

LIU, Z.-L., JIA, Q.-Y., LI, X.-D., LI, S.-P., SHEN, J., LIN, J., LI, D. Síntese de HAp-Au/MTX mesoporoso oco e sua aplicação em drug delivery. **Surf Colóide. A**. v. 586, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.124231>.

LUCHESE, C. L. **Desenvolvimento de embalagens biodegradáveis a partir de amido contendo subprodutos provenientes do processamento de alimentos**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p.226, 2018.

MAHMOOD, H., KHAN, I.U., ASIF M., KHAN R.U., ASGHAR S., KHALID I., SYED H.K., IRFAN M., REHMAN F., SHAHZAD Y., YOUSAF A.M., YOUNUS A., NIAZI Z.R., ASIM M. In vitro and in vivo evaluation of gellan gum hydrogel films: Assessing the co impact of therapeutic oils and ofloxacin on wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 166, p. 483–495, 2021.

MALAFATTI, J. O. D.; RUELLAS, T. M. O.; SCHILDT, L. F. L.; DOMINGUES, M. Á.; MARINHO, B. S.; MEIRELLES, M. R.; PARIS, E. C. Propriedades mecânicas de filmes de amido termoplástico na presença de ureia. **A Geração de Novos Conhecimentos na Química**, v. 2, p. 237–249, 2021.

MARTINS, P. C; BAGATINI, D. C; MARTINS, V. G. Oregano essential oil addition in rice starch films and its effects on the chilled fish storage. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 58, p. 1562-1573, 2021. DOI <https://doi.org/10.1007%2Fs13197-020-04668-z>.

MATTOS, F. C. G. Desenvolvimento de Argilas Montmorilonitas Modificadas para Aplicação em Catálise. Dissertação de Mestrado. Brasília: Universidade de Brasília, 2012.

MENDES, J. F; NORCINO, L. B; MARTINS, H. H. A; MANRICH, A; OTONI, C. G; CARVALHO, E. E. N; PICCOLI, R. H.; OLIVEIRA, J. E; PINHEIRO, A. C. M; MATTOSO, L. H. C. Correlating emulsion characteristics with the properties of active starch films loaded with lemongrass essential oil. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 100, p. 105428, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105428>.

MIRANTE, D. C. **Desenvolvimento tecnológico e avaliação das atividades antimicrobianas de micropartículas de polilisina e de nanocápsulas contendo óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae)**. 2015. Dissertação de Mestrado (Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, Paraná, 2015.

MISHRA, B., VARJANI, S. J., POLLUTION, G., BOARD, C., PARIDA, M., IRAGAVARAPU, G. P. Film based packaging for food safety and preservation: issues and perspectives. In A. Singh, S. Srivastava, D. Rathore, D. Pant. **Environmental Microbiology and Biotechnology**. Springer Nature Singapore, 2021. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-7493-1>

MONÇÃO, E. C., GRISI, C. V. B., FERNANDES, J. M., SOUZA, P. S., SOUZA, A. L. Active packaging for lipid foods and development challenges for marketing. **Food Bioscience**, v. 45, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101370>

MULHEN, M. V. **Avaliação das propriedades dos filmes de amido/quitosana com incorporação de nanoargilas closite 20A e 30B**. Orientador: Cleide Borsoi. TCC (Bacharelado de Engenharia Química), Universidade do Vale do Taquari, Lajeado, 2023.

MYLLÄRINEN P., BULEON A., LAHTINEN R., FORSSELL P. The crystallinity of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**. v. 48, i.1, p. 41-48, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(01\)00208-9](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(01)00208-9).

NETO, J. N. C.; SORBO, J. M.; FILHO, C. A. A.; SABINO, T. F. M.; RIBEIRO, D. A.; BRUNETTI, I. L.; ANDRADE, de C. R. Negative terpinen-4-ol modulate potentially malignant and malignant lingual lesions induced by 4-nitroquinoline-1-oxide in rat model. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol**. [s. l.], v. 395, p.1387–1403, 2022. DOI <https://doi.org/10.1007/s00210-022-02275-7>.

NGUYEN, L.; DEVICO, B.; MANNAN, M.; CHANG, M.; SANTACRUZ, C. R.; SIRAGUSA, C.; EVERHAT, S.; FAZEN, C. H. Tea Tree Essential Oil Kills *Escherichia coli* and *Staphylococcus epidermidis* Persisters. **MDPI**, [s. l.], v. 13, ed. 9, 2023. DOI <https://doi.org/10.3390/biom13091404>.

Óleo Essencial de Tea Tree (Melaleuca). Disponível em:

<<https://www.oleosessenciais.org/oleo-essencial-de-tea-tree-melaleuca/>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

OLIVEIRA, C. F. P. **Obtenção e caracterização de amido termoplástico e de suas misturas com polipropileno**. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Materiais, Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

OLIVEIRA, L. A., HANSEN B., BORSOI C., CATTO, A. L. Avaliação das propriedades físicas, térmicas e mecânicas de filmes poliméricos de amido de milho reforçados com nanocristais de celulose. **Tecnologias Sustentáveis**, [s. l.], ed. 1, p. 11-24, 2023.

PADILHA, A. C. **Produção de embalagem biodegradável a base de amido de mandioca e gelatina para aplicação em produtos alimentícios**. Francisco Beltrão: [s.n.]. 2019.

PERDANA, M. I; RUAMCHAMODEN, J; PANPHON, S; LEELAKRIANGSAK, M. Antimicrobial activity and physical properties of starch/chitosan film incorporated with lemongrass essential oil and its application. **Lwt**, [s. l.], v. 141, p. 110934, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110934>.

PEREIRA S., E. NICÁSIO P.H.M., BARBOSA F.C., SILVA H.N., ANDRADE A.L.S., FOOK M.V.L., SILVA S.M.L., LEITE I.T. Chitosan/Essential Oils Formulations for Potential Use as Wound Dressing: Physical and Antimicrobial Properties. **Materials**, [s. l.], v. 12, n. 14, p. 2223, 2019.

PEREZ, L. A. B.; AGAMA-ACEVEDO, E. Chapter 1 - Starch. **Starch-Based Materials in Food Packaging: Processing, Characterization and Applications**, [s. l.], p. 1-18, 2017. DOI <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809439-6.00001-7>.

PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2003.

PROENÇA, L. B. **Desenvolvimento e caracterização de bionanocompósitos de poli(ácido) lático e argila montmorilonita incorporados com óleo essencial de melaleuca**. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

POONGAVANAM, S. S.; SUBRAMANIYAN, V.; SELLAMUTHU, P. S.; JARUGALA, J.; SADIKU, E. R. Fabrication of Bio-Nanocomposite Packaging Films with PVA, MMt Clay Nanoparticles, CNCs, and Essential Oils for the Postharvest Preservation of Sapota Fruits. **Polymers**, v. 15, p. 3589, 2023. <https://doi.org/10.3390/polym15173589>

POZZEBON G. **Avaliação da influência de diferentes teores de óleo essencial de capim-limão nas propriedades físicas, químicas, térmicas e antibacterianas de filmes de amido.** Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Engenharia Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, 2024.

RAZAVI, S. M. A.; MOHAMMADI, M.; AMINLARI, M. Effect of emulsifier type on the physical, mechanical and antimicrobial properties of biodegradable films containing essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 371–379, 2015.

RIBEIRO, P. L. L. Efeito da glicerina residual do biodiesel e de estirpes microbianas (*Cupriavidus necator* IPT 027 e *Burkholderia cepacia* IPT 438) na produção, propriedades e composição de copolímeros de polihidroxialcanoatos. Salvador, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/18621/3/Dissertação de Mestrado - Paulo Leonardo Lima Ribeiro - PPEQ - UFBA.pdf>. Acesso em: maio de 2025.

ROY S, RHIM J.W. Carrageenan/agar-based functional film integrated with zinc sulfide nanoparticles and Pickering emulsion of tea tree essential oil for active packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 193, p. 2038-2046, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.035>.

RUIZ-NAVAJAS Y., VIUDA-MARTOS M., SENDRA E., PEREZ-ALAVAREZ J.A., FERNÁNDES-LÓPEZ J., In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. **Food Control**. v. 30, p. 386-392, 2013.

RUSSELL, M. 1999. Toxicologia do óleo da árvore do chá, p. 191-201. *Em I.* Southwell e R. Lowe, Tea tree: the genre *Melaleuca* , vol. 9. **Harwood Academic Publishers**, Amsterdã, Holanda.

SANTOS, E.P.; NICÁCIO P.H.M.; BARBOSA F.C.; SILVA H.N.; ANDRADE A.L.S.; FOOK M.V.; SILVA S.M.L.; LEITE I.F. Chitosan/Essential Oils Formulations for

Potential Use as Wound Dressing: Physical and Antimicrobial Properties. **Materials**, [s. l.], v. 12, n. 14, p. 2223, 2019.

SATHIYASEELAN, A.; SARAVANAKUMAR, K.; MARIADOSS, A. V. A.; RAMACHANDRAN, C.; HU, X.; OH, D. H.; WANG, M. H. Antimicrobial and antioxidant activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil for the preservation of red bell peppers. **Progress in Organic Coatings**, v. 151, p. 106010, 2021.

SEVERO, C., ANJOS, I., G.L. SOUZA, V. G. L., CANEJO, J. P., BRONZE, M. R., FERNANDO, A. L., COELHO, I., BETTENCOURT, A. F., RIBEIRO, I. A. C. Development of cranberry extract films for the enhancement of food packaging antimicrobial properties. *Food Packaging and Shelf Life*. v. 28, p. 100646, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100646>.

SHAN B.R, DVOYRAK P, VELIYSEK J.M.R. J. Abrindo uma nova porta de entrada para as aplicações de nanopartículas de quitosana emulsão de Pickering estabilizada no domínio da aquicultura. **Carbohydr. Polim.** v. 265, p. 118096, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118096>.

SHAO, X.; WANG, H.; XU, F.; CHENG, S. Effects and possible mechanisms of tea tree oil vapor treatment on the main disease in postharvest strawberry fruit. **Postharvest Biology And Technology**, Amsterdam, v. 77, p.94-101, 2013.

SHEMESH R., GOLDMAN, D., KREPKER, M., DANIN-POLEG, Y., KASHI, Y., VAXMAN, A., SEGAL, E. Nanocompósitos de LDPE/argila/carvacrol com atividade antimicrobiana prolongada . **J. Appl. Polym. Sci.** v. 132 , p. 41261, 2014. DOI: 10.1002/app.41261

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Ciência de Alimentos**, [s. l.], v. 28, p. 79-88, 2007.

SILVA, A. A.; DAHMOUCHE, K., SOARES, B.G. Nanostructure and dynamic mechanical Properties of silane-functionalized montmorillonite/epoxy nanocomposites. **Applied Clay Science**. v. 54, p, 151-158, 2011.

SILVA, C.G.; YUDICE, E.D.C.; CAMPINI, P.A.L.; ROSA, D.S. The performance evaluation of Eugenol and Linalool microencapsulated by PLA on their activities against pathogenic bacteria. **Materials Today Chemistry**, [s. l.], v. 21, 2021. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.mtchem.2021.100493>.

SILVA, N. P., CARMO R.L.P., DUARTE, L. M., OLIVEIRA F. J. C., ALMEIDA, C. G., SILVA, T. P., FARIA P. P. Improved anti-Cutibacterium acnes activity of tea tree oil-loaded chitosan-poly (epsilon-caprolactone) core-shell nanocapsules. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 196, p. 111371, 2020.

SILVA, L. R. C., FRANÇA, R. A., SILVA, R. N., ALVES, T. S., BARBOSA, R., RIOS, A. O., SANTANA, R. M. C. Development by extrusion of composite films based on Poly(Lactic Acid)/Babassu Mesocarp Flour. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. v. 34, 2024. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.20230103>

SILVEIRA, M. P.; SILVA, H. C.; PIMENTEL, I. C.; POITEVIN, C. G.; STUART, A. K. C.; CARPINÉ, D.; JORGE, L. M. de M.; JORGE, R. M. M. Development of active cassava starch cellulose nanofiber-based films incorporated with natural antimicrobial tea tree essential oil. **Journal of Applied Polymer Science**, [s. l.], v. 137, 2019. DOI <https://doi.org/10.1002/app.48726>.

SINGH, P.; KAUR, G.; SINGH, A.; DAR, B.N. Effect of montmorillonite and starch nanocrystals based biodegradable films loaded with lemongrass oil nanoemulsion on 92 quality, enzymatic activity and shelf life of strawberry. **Food Chemistry Advances**, [S.L.], v. 3, p. 100343, dez. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.focha.2023.100343>.

SONI, B., HASSAN, E. B., SCHILLING, M. W. MAHMOUD, B. Transparent bionanocomposite films based on chitosan and TEMPO-oxidized cellulose nanofibers

with enhanced mechanical and barrier properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 779–789, 2016.

SONG X., ZUO G., CHEN F. Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 107, p. 1302-1309, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.114>.

SONG X., WANG L., LIU L., LI J., WU X. Impact of tea tree essential oil and citric acid/choline chloride on physical, structural and antibacterial properties of chitosan-based films. **Food Control**. v. 141, p. 109186, 2022.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109186>.

SOUSA, T. C. A.; ROSAS, A. L. G.; GONÇALVES, G. C. P.; MASSAUT, Y. V. B.; GANDRA, E. A.; MEINHART, A. D. XXV ENPÓS. Filme de amido de trigo incorporado com óleo essencial de eucalipto citriodora (*corymbia citriodora*) e seu efeito sobre *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **XXV Enpós**. [s. l.], Pelotas, v.97, 2023.

SOUZA A. K. C. **Elaboração filmes de quitosana e alginato contendo óleo essencial de melaleuca visando aplicação no tratamento da acne vulgar**. Dissertação – Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

SOUZA A.C., BENZE R., FERRÃO E.S., DITCHFIELD C., COELHO A.C.V., TADINI C.C., Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, p. 110-117, 2012.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.10.018>.

SOUZA, A. C., DITCHFIELD, C., TADINI, C. C. Biodegradable films based on biopolymers for food industries. **Innovation in Food Engineering: New techniques and products**. Boca Raton, p. 511-537, 2010.

SOUZA A.C., GOTO G.E.O., MAINARDI J.A., COELHO A.C.V., TADINI C.C.

Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil:

Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. **LWT - Food Science and Technology**. v. 54, p. 346-352, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.017>.

SOUZA A.G., SANTOS N.M.A., SILVA T. R.F., SANTOS R. D. Synergic antimicrobial properties of Carvacrol essential oil and montmorillonite in biodegradable starch films. **Int J Biol Macromol**. 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.226.

SOUZA, R. R. O., SILVA, G. A., AVELLAR, J. G. M; PALHA M. L. A. P. F.; VINHAS, G. M. Estudo da biodegradação do Poli(butileno adipato co-tereftalato) (PBAT) com óleo essencial de manjerição exótico em lodo anaeróbio). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, 2022.

TARIQUE J., SAPUAN S.M., KHALINA A., ILYAS R.A., ZAINUDIN E.S.

Propriedades térmicas, de inflamabilidade e antimicrobianas de compósitos

biopolímeros de amido de araruta reforçados com fibra de araruta (Maranta

arundinacea) para aplicações em embalagens de alimentos. **Int J Biol Macromol**,

2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.104>

TIAN, Y., LEI, Q., YANG, F., XIE, J., CHEN, C. Desenvolvimento de filmes de

embalagem ativos de PBAT/amido termoplástico com óleo essencial de canela, com

diferentes comportamentos de liberação e atividade antimicrobiana. **Int. J. Biol.**

**Macromol**. v.263, p. 130048, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130048>.

VARGAS, M.; ALMENAR, E.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Effect of

chitosan-based edible coatings applied by vacuum impregnation on quality

preservation of fresh-cut carrots. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 5,

p. 1200–1208, 2011.

XIAO, L., KANG, S., LAPU, M., JIANG, P., WANG, X., LIU, D., LI, J., LIU, M. Preparation and characterization of chitosan/pullulan film loading carvacrol for targeted antibacterial packaging of chilled meat. **Int. J. Biol. Macromol.** v. 211, p. 140–149, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.044>.

WANG, B., YU, B., YUAN, C., GUO, L., LIU, P., GAO, W., LI, D., CUI, B., EL-ATY A. M. A. (2021). An overview on plasticized biodegradable corn starch-based films: the physicochemical properties and gelatinization process. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, p. 2569-2579, 2021.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33401939/>

WANG Y., CHENG M, YAN X., ZHAO P., WANG K., WANG Y., WANG X., WANG J. Preparation and characterization of an active packaging film loaded with tea tree oil-hydroxyapatite porous microspheres. **Industrial Crops and Products**. v. 199, p. 116783, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116783>.

WERLE, J.; HILLEBRAND S.; SCHNEIDER R.C.S.; RADTKE J.F.; VARGAS D.P. Efeito dos óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* na atividade antimicrobiana em *Escherichia coli*. Anais eletrônicos. In: MOSTRA DE EXTENSÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA UNISC, n. 3. Santa Cruz do Sul: UNISC, 2022.

YANG, Z., LI, M., ZHAI, X., ZHAO, L., TAHIR, H.E., SHI, Y., ZOU, X., HUANG, X., LI, Z., XIAO, J., 2022. Desenvolvimento e caracterização de filme ativo em nanoemulsão de alginato de sódio/óleo essencial de tea tree contendo nanopartículas de TiO<sub>2</sub> para embalagens de banana. **Internacional J. Biol. Macromol.** v. 213, p. 145–154, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.164>.

YILDIRI, S., ROCKER, B., PETERSEN, M. K., NILSEN-NYGAARD J., AYHAN, Z., RUTKAITE, R., RADUSIN, T., SUMINSKA, P., MARCOS, B., COMA, V. Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 17, p. 165–199, 2018. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12322>

ZHANG, R.; MA, S.; LI, L.; ZHANG, M.; TIAN, S.; WANG, D.; LIU, K.; LIU, H.; ZHU, W.; WANG, X. Comprehensive utilization of corn starch processing by-products: A review. **Grain & Oil Science and Technology**, [s. l.], v. 4, p. 89-107, 2021. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.gaost.2021.08.003>.